

612. 82 (043.2)
~~DIE~~
~~out~~

1/
260

FACULTAD DE MEDICINA
UNIVERSIDAD AUTONOMA DE MADRID

ARTERIAS CEREBRALES HUMANAS:
RESPUESTA "IN VITRO"
A ESTIMULOS AMINERGICOS Y PEPTIDERGICOS

TESIS DOCTORAL

Reg. F. M. 8.376

E. DIEZ TEJEDOR
MADRID, 1987

Reunido el Tribunal que suscribe en el día de la
fecha, acordó calificar la presente Tesis Doctoral
con la censura de Apto cum laude ^{pro}

Madrid, 24 Noviembre 82

Marquez

Gustavo Abotol

P. Kell

Parr

Damian



Avda. Blasco Ibáñez, 17
46010 Valencia

UNIVERSITAT DE VALÈNCIA

DEPARTAMENTO DE FISIOLÓGIA

SALVADOR LLUCH, Catedrático de Fisiología de la
Universidad de Valencia

CERTIFICA

Que D. Exuperio Díez Tejedor ha realizado bajo mi
dirección la Tesis titulada ARTERIAS CEREBRALES
HUMANAS: RESPUESTA IN VITRO A ESTIMULOS AMINERGICOS
Y PEPTIDERGICOS, para optar al grado de Doctor

Valencia 28 de septiembre de 1987

UNIVERSIDAD
AUTÓNOMA
DE MADRID
FACULTAD DE MEDICINA
BIBLIOTECA



UNIVERSIDAD AUTONOMA DE MADRID

FACULTAD DE MEDICINA

DEPARTAMENTO DE FISILOGIA

Godofredo Diéguez Castrillo, Catedrático de Fisiología, Facultad de Medicina, Universidad Autónoma de Madrid, como ponente,

AVALA la presentación del trabajo de investigación titulado "Arterias cerebrales humanas: respuesta in vitro a estímulos aminérgicos y peptidérgicos" realizado por D. Exuperio Díez Tejedor y dirigido por D. Salvador Lluch López, Catedrático de Fisiología, para obtener el Grado de Doctor en Medicina y Cirugía en esta Facultad.

El trabajo de investigación fué realizado en su totalidad en este Departamento de Fisiología del que fué miembro hasta el mes de junio último el director del trabajo.

Para que conste, firmo el presente en Madrid a 30 de septiembre de 1987.

G. Diéguez

AGRADECIMIENTOS

Hace unos años que me acerqué al Departamento de Fisiología de la Facultad de Medicina de la Universidad Autónoma de Madrid con la intención y esperanza de realizar mi tesis doctoral, atraído por el estudio del funcionalismo de la circulación cerebral y sus alteraciones. Me encontré con un equipo de investigadores, dirigido por el Profesor S.Lluch, que no sólo dió expectativas a mi esperanza, sino que pronto la convirtieron en una ilusión por la Medicina experimental.

Vaya, pues, mi agradecimiento en primer lugar para el Dr. Lluch, que me aceptó en el Departamento y dirigió esta Tesis, obsequiándome, además, con su amistad. A la Dra. Conde le agradezco de forma muy especial el haber sido mentor de este trabajo, particularmente durante la fase experimental; su crítica constante, así como su perfeccionismo, ha contribuído notablemente a la realización de esta tesis. Igualmente el Dr. Gómez con su apoyo técnico-logístico y acertados consejos, supuso una gran y memorable ayuda. Y, por no olvidar a nadie, reciba mi sincero agradecimiento todos aquellos otros miembros del Departamento que de un modo u otro me ayudaron y alentaron. Sin alguno de ellos, probablemente, esta tesis no se hubiese concluído.

Justo es, también, reconocer la cortesía del Departamento de Anatomía Patológica y del Servicio de Neurocirugía del Hospital "La Paz" por habernos facilitado las arterias cerebrales; y especialmente a la Sección de Neuropatología que realizó los estudios histológicos.

Posiblemente, por diversas circunstancias, queden en el anonimato algunas de las personas que, de forma desinteresada, han contribuído destacadamente a la conclusión de este trabajo. Ellas saben de mi reconocimiento.

INDICE

Página

- INTRODUCCION	1
- OBJETIVOS	13
- MATERIAL Y METODOS	14
Procedimiento Experimental	15
Estudios farmacológicos	23
Estimulación eléctrica de campo	27
Análisis de los resultados	27
Productos utilizados	28
- RESULTADOS	29
Potencias relativas	29
Sistema adrenérgico	29
Sistema serotoninérgico	36
Sistema peptidérgico	40
Cloruro potásico	54
- DISCUSION	63
Potencias relativas	65
Sistema adrenérgico	66
Sistema serotoninérgico	77
Sistema peptidérgico	84
Valoración y reflexiones sobre los resultados obtenidos	100
- RESUMEN Y CONCLUSIONES	104
- AGRADECIMIENTOS	108
- BIBLIOGRAFIA	109

Este trabajo de investigación ha
sido subvencionado en parte por el
Ministerio de Sanidad y Consumo.

INDICE

Página

- INTRODUCCION	1
- OBJETIVOS	12
- MATERIAL Y METODOS	14
. Procedimiento Experimental	15
. Estudios farmacológicos	23
. Estimulación eléctrica de campo	27
. Análisis de los resultados	27
. Productos utilizados	28
- RESULTADOS.....	29
. Potencias relativas	29
. Estímulos adrenérgicos	29
. Estímulo serotoninérgico	36
. Estímulos peptidérgicos	40
. Cloruro potásico	54
- DISCUSION	63
. Potencias relativas	65
. Sistema adrenérgico	68
. Sistema serotoninérgico	77
. Sistema peptidérgico	84
. Valoración y Reflexiones sobre los resultados obtenidos	100
- RESUMEN Y CONCLUSIONES	104
- A MODO DE EPILOGO	108
- BIBLIOGRAFIA	109

El conocimiento de la circulación cerebral y su fisiología ha constituido un reto a lo largo de la Historia, despertando el interés de clínicos e investigadores. Este interés está justificado por la importancia que la patología vascular tiene dentro de la clínica humana, constituyendo uno de los capítulos más importantes entre las afecciones neurológicas. Bástenos recordar lo siguiente: 1) supone la 3ª causa de muerte por orden de frecuencia; 2) su incidencia es de 150/100.000 habitantes año; 3) representa una mortalidad de 70/100.000 habitantes año, de los que 80% corresponden a procesos isquémicos y 20% a hemorrágicos (125). Sin olvidar que, además de su mortalidad, es causa de importantes secuelas. Otro dato a resaltar son las alteraciones funcionales que se producen en la circulación cerebral en estos procesos, las cuales juegan un papel importante en el establecimiento de las lesiones finales y en su desarrollo fisiopatológico. Pero acaso uno de los fenómenos que más atraen a los estudiosos de la patología vascular cerebral sea el vasoespasmo que ocurre en la hemorragia subaracnoidea, que va a ser en el 33.5% de los casos el responsable de las causas de incapacidad y de muerte en este grupo (116).

El deseo de conocer el mecanismo patogénico de estos fenómenos patológicos ha

alentado, sin duda, al estudio de la circulación cerebral con la pretensión de conocer los fundamentos de su regulación tanto en el individuo sano como enfermo; y a investigar la capacidad de respuesta de los vasos sanguíneos cerebrales a distintas sustancias vasoactivas que pueden influir en ellos. Todo ello con el ánimo de que su mayor conocimiento abra vías que permitan un abordaje terapéutico más racional y eficaz.

La organización anatómica de la circulación cerebral le confiere especial dificultad para su estudio. Por otra parte existe la peculiaridad de que el encéfalo se halla alojado en un estuche óseo inextensible, lo que introduce sobre el volumen sanguíneo cerebral el condicionante de la presión intracraneal. A partir de aquí, clásicamente se ha considerado que el flujo sanguíneo carebral (F.S.C.) se mantiene constante a pesar de que la presión arterial fluctúe dentro de unos límites (60-160 mm. Hg), en contra de otras opiniones que defendían que este flujo dependía exclusivamente de la presión de perfusión (101). Esto llevó a la idea de que la circulación cerebral tenía una regulación intrínseca, surgiendo así el concepto de AUTORREGULACION planteado por FOG alrededor de 1930 (74,75) y sancionado por LASSEN (1959) (134). Esta

era posible gracias a que existe una modificación activa del diámetro de los vasos con una doble finalidad: mantener el F.S.C. independientemente de las variaciones de la presión de perfusión y así adaptarlo a las necesidades tisulares locales. De tal modo era así, que se objetivó que la hipertensión arterial dejaba a áquel inalterable (117) aunque posteriormente se ha visto que una elevación marcada de la presión arterial establecía limitaciones a la autorregulación (223).

La autorregulación actuaría sobre las resistencias vasculares y para explicarla se han propuesto las siguientes teorías: miógena, metabólica y neurógena.

La Teoría Miógena, planteada por primera vez por BAYLISS en 1902 (19), se refiere al efecto por el cual la fibra muscular lisa de arterias y arteriolas es capaz de responder frente al estímulo mecánico de los cambios de presión intraluminal. FOLKOW (1949) (76) estableció que la presión intravascular serviría como estímulo para el mantenimiento y la modificación del tono arterial, por lo que las variaciones en la presión inducirían cambios en el tono vascular. Aunque esta teoría fue perdiendo vigencia, sin embargo ha sido revalorizada por EKSTRÖM-JODAL y col. (1969) (69) y puesta en relación con las influencias que el

aumento de presión arterial tenía sobre la circulación cerebral (68,223).

La Teoría Metabólica, que tiene su origen en los trabajos de ROY y SHERRINGTON (1890) (202), se basa en que variaciones en la pCO_2 y pH sanguíneos y locales, inducirían cambios en el calibre vascular, en el sentido de que una elevación de pCO_2 y la disminución del pH producirían una vasodilatación correctora del metabolismo local, mientras que una reducción de la pCO_2 y un incremento del pH causaría vasoconstricción. Este feed-back sería la base de la autorregulación. Otras sustancias, como el K^+ o ciertos metabolitos como adenosina, etc., que se han ido incorporando a esta teoría, vendrían a completar los factores locales que influyen sobre los vasos cerebrales (20).

La Teoría Neurógena cifra el papel fundamental de la regulación del F.S.C. en el control que sobre el calibre de los vasos establecía el sistema nervioso autónomo a través de la inervación de los mismos y de los neurotransmisores que sobre ellos actuaban. Sus cimientos se iniciaron con los estudios de la acción del simpático sobre las arterias cerebrales y sus orígenes podíamos hallarlos en las observaciones de PENFIELD (1932) (179) y CHOROBsky y PENFIELD (1932) (41).

Históricamente fueron las dos primeras teorías las señeras, pero poco a poco la idea de la regulación neurógena ha ido ganando terreno hasta la actualidad. Habiéndose establecido que existen influencias humorales y neurogénicas en la regulación de la circulación cerebral (121,126).

Quizás la imprecisión de las técnicas de valoración del F.S.C. haya dado lugar a la obtención de resultados contradictorios de difícil interpretación e hizo pensar que los vasos cerebrales se comportaban de forma cualitativamente distinta a la de otros territorios. Sin embargo en los últimos años se han ido acumulando evidencias de que estos vasos, aunque con algunas diferencias, están sujetos a una regulación nerviosa y humoral semejante a la de otros lechos vasculares (126).

El conocimiento de la regulación neurógena se basa en datos morfológicos, fisiológicos y farmacológicos.

Morfológicamente, tenemos constancia de la presencia de terminales nerviosas en arterias piales del hombre desde la descripción de T. WILLIS (1664) (248). Hubieron de pasar algunos siglos para que el valor de estos hallazgos alcanzara la relevancia que realmente merecen. Fue en 1893 cuando KOELLIKER (120) descubrió la inervación de los vasos intracerebrales. Pero este desarrollo se

inicia de verdad en el presente siglo, a partir de la preocupación por la regulación del F.S.C. y, tras algunos trabajos aislados (179), es desde la década de los sesenta hasta la actualidad cuando se han ido acumulando datos realmente importantes en este sentido. Así, a partir de la microscopía óptica, de fluorescencia y microscopía electrónica, a las que se añadieron los métodos de histoquímica, inmunohistoquímica e inmunofluorescencia, complementados con las determinaciones bioquímicas de los neurotransmisores, se llegó a la demostración de la presencia de fibras nerviosas que inervaban los vasos cerebrales. Así se ha objetivado inervación adrenérgica (26, 33, 42, 55, 99, 159, 168, 169, 170, 173, 198, 235), dopaminérgica (sólo ha sido sugerida su existencia) (97), colinérgica (41, 44, 63, 67, 168) y triptaminérgica (40, 45, 46, 52, 88, 89, 107, 163, 167, 191). Así mismo se ha demostrado para algunos neuropéptidos como el péptido vasoactivo intestinal (66, 132), sustancia P (233), neuropéptido Y (232) y el péptido liberador de gastrina (234). En otras como la histamina no se conocen terminaciones nerviosas perivasculares pero se ha identificado la presencia de mastocitos en el trayecto de las arterias tanto piales como intracerebrales (65, 67, 196, 199). Conllevan la dificultad de separar los efectos sobre el F.S.C. debidos a la acción directa

FORBES en 1928 (77, 78) observa a través de una ventana craneal los efectos vasculares de la estimulación simpática y parasimpática. Pero, desde el punto de vista fisiológico y farmacológico, el conocimiento de los efectos vasomotores vehiculados por el sistema nervioso autónomo se inicia realmente con el estudio de las modificaciones sobre el F.S.C. in vivo (con el animal despierto o anestesiado) producidas por: 1) la estimulación eléctrica del simpático cervical (43, 110, 124), 2) la extirpación del ganglio simpático cervical superior (3, 109) y 3) la administración de fármacos agonistas y antagonistas, así como depleccionantes de vesículas presinápticas y destructores de terminales nerviosas o de receptores, tanto para el sistema adrenérgico (86, 147, 210) como serotoninérgico (6, 145).

Igualmente con el uso de fármacos activos se ha demostrado la influencia de ciertos neuropéptidos sobre la circulación cerebral en el animal despierto, como son: angiotensina II (47, 122, 149, 171, 219, 242) y vasopresina (123, 135, 144) para las que no hay evidencia de fibras nerviosas específicas sobre estos vasos.

Los estudios realizados sobre el animal in vivo conllevan la dificultad de separar los efectos sobre el F.S.C. debidos a la acción directa

cerebrovascular de los que corresponden secundariamente a las repercusiones hemodinámicas (presión arterial, gasto cardíaco, etc.) (147). A este inconveniente hay que añadir el que existe una multiplicidad de modelos experimentales.

Frente a esto, los trabajos "in vitro" con vasos cerebrales aislados suponían un avance importante, ya que permitían estudiar los mecanismos intrínsecos del vaso, eliminando las influencias hemodinámicas y, por otra parte, es un método adecuado para la identificación de receptores específicos mediante la aplicación de agonistas y antagonistas, siendo además aplicable a cualquier especie incluido el hombre. Esto permite resultados más homologables y poder establecer comparaciones, especialmente entre los resultados en arterias cerebrales humanas y de animales, lo que facilitaría una cierta extrapolación de los hallazgos en el animal vivo al hombre.

Con todos estos métodos se han ido identificando en los vasos cerebrales una serie de receptores para distintos neurotransmisores que podríamos sumarizar así: adrenérgicos (alfa y beta), colinérgicos (muscarínicos y nicotínicos) triptaminérgicos, histaminérgicos, dopaminérgicos, angiotensinérgicos y gabaérgicos (70, 95) algunos de ellos con sus correspondientes subtipos. A

éstos podremos añadir los de la sustancia P (60), los de endorfinas (94) y los vasopresinérgicos (144).

Lo cierto es que en el momento actual el conocimiento de los receptores farmacológicos de los vasos cerebrales ha adquirido un gran interés en la investigación de la regulación de la circulación cerebral, así como el descubrir los mecanismos intrínsecos de la pared vascular que intervienen en esta vasoactividad tras la estimulación de los mismos.

La cuestión ahora es, ¿estos neurotransmisores llegan sólo a través de fibras nerviosas?. Es evidente que también por vía humoral se estimulan los receptores vasculares, pero además existen algunos de ellos en los que no se ha identificado la presencia de terminaciones nerviosas específicas, por lo que cabe suponer que o bien sus receptores se activan sólo por vía humoral o que aquellas fibras existen aunque no hayan sido objetivadas. En cualquier caso habremos de aceptar que ambas vías (humoral y nerviosa) son eficaces en esta regulación.

Indudablemente, como ya se dijo, existen otros mecanismos locales que intervienen en el control de la circulación cerebral, pero nosotros centramos nuestro estudio sobre la caracterización e importancia funcional de los receptores

farmacológicos de los vasos cerebrales humanos.

El conocimiento de la regulación de la circulación cerebral en el hombre se ha basado, fundamentalmente, en los datos obtenidos del animal de experimentación. Existen muy pocos estudios con material humano, lo que resulta lógico dadas las dificultades que su obtención comporta y, por supuesto, tan sólo se pueden estudiar *in vitro*. Para lo cual es necesario disponer de necropsias o de piezas quirúrgicas. La tarea es ardua y, de los pocos estudios que se disponen, la metodología no siempre ha sido tan rigurosa como sería deseable. Entre otras razones hemos de contemplar el que no se pueden obtener los vasos inmediatamente al fallecimiento, como se hace en el caso de los animales, y en la cirugía se introducen otros factores que pueden ser causas de errores. A pesar de todo existen algunos trabajos sobre la respuesta "*in vitro*" de arterias cerebrales humanas (197, 213) que, con todas sus limitaciones, nos sirvieron de orientación.

Todo esto nos animó en la idea de la necesidad de estudiar en este tipo de arterias humanas algunos de los aspectos funcionales ya conocidos en animales, esperando así obtener los datos que nos permitieran un mejor conocimiento del funcionalismo de estos vasos.

¿A qué era debida esta inquietud?. La respuesta ya fue dada al principio, se basa en la necesidad de profundizar en los aspectos fisiopatológicos en los que se imbrica la capacidad de respuesta vascular cerebral (procesos isquémicos del sistema nervioso central, migraña, hemorragias encefálicas, parenquimatosas y subaracnoideas, etc.). Y esto es así, porque estamos convencidos de que gran parte de la ignorancia sobre los fenómenos clínicos está en relación con el escasos conocimientos que sobre el aspecto funcional de los vasos sanguíneos cerebrales se tiene todavía.

OBJETIVOS

En base a lo anteriormente expuesto, podemos decir que el objetivo de nuestro trabajo es el de contribuir al conocimiento de la farmacología de los vasos cerebrales humanos, analizando su capacidad de respuesta a diferentes tipos de estímulos y con ello ahondar en los mecanismos que intervienen en la regulación de la circulación cerebral en el hombre.

Para cumplir esta meta se eligieron los siguientes tipos de estímulos: aminérgicos (noradrenalina, tiramina y serotonina), peptidérgicos (angiotensina II y vasopresina) y estimulación eléctrica de campo. Con ello se pretendía demostrar primero si eran activos y segundo identificar si su efecto ocurría a través de la activación de receptores específicos.

Elegimos estas sustancias por su posible relevancia en la regulación de la circulación cerebral y porque algunas de ellas son conocidas por su relación con la fisiopatología de ciertos procesos cerebrovasculares. Por todo esto, su estudio supondría una ayuda para desvelar algunos aspectos de los mecanismos de la regulación del flujo sanguíneo cerebral en condiciones normales y patológicas.

Para desarrollar este trabajo se utilizaron arterias cerebrales humanas procedentes de necropsias y de intervenciones neuroquirúrgicas

en las que se extirpaba tejido cerebral. Y se prepararon segmentos vasculares cilíndricos de 4 mm. de longitud que se montaron en un baño de órganos para el registro de la tensión isométrica.

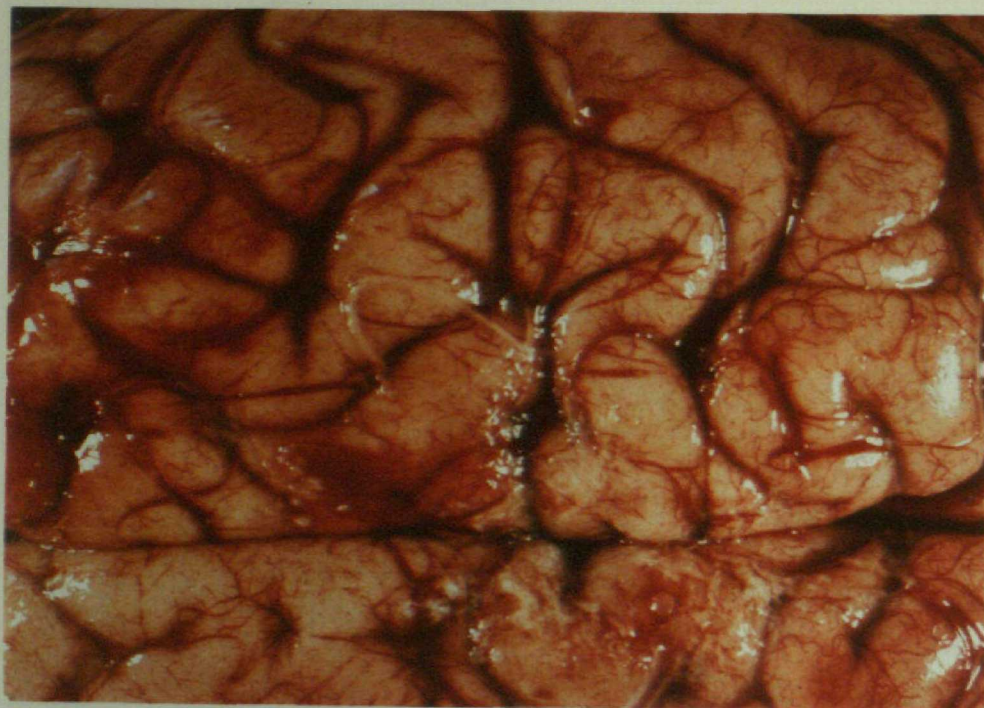
MATERIAL Y METODOS

Para realizar los experimentos, en el presente trabajo se utilizaron arterias cerebrales humanas obtenidas de necropsias realizadas en el Departamento de Anatomía Patológica del Hospital "La Paz" de Madrid.

Se tomaron muestras de 41 individuos adultos de 17-87 años de edad (media = 63 ± 3 años), estableciéndose como única selección la de eliminar aquellos pacientes portadores de patologías que pudieran alterar el estudio posterior (hipertensión arterial, diabetes y hemorragias o infartos cerebrales).

Una vez extraído el cerebro se procedía a la disección y obtención de arterias córtico piales de la convexidad cerebral (Figura 1), y se introducían en un frasco que contenía una solución oxigenada de Krebs-Henseleit. Este frasco estaba situado en un recipiente con hielo para así realizar el traslado del material y ser estudiado en el laboratorio del Departamento de Fisiología. Posteriormente se seleccionaban segmentos vasculares para su inmediata utilización y el resto era mantenido en la misma solución oxigenada y conservado en un frigorífico a 4°C para ser utilizados en días sucesivos. Las arterias cerebrales eran recogidas 2-12 horas después del fallecimiento de los individuos y el tiempo que mediaba entre el fallecimiento y la realización de

A



B

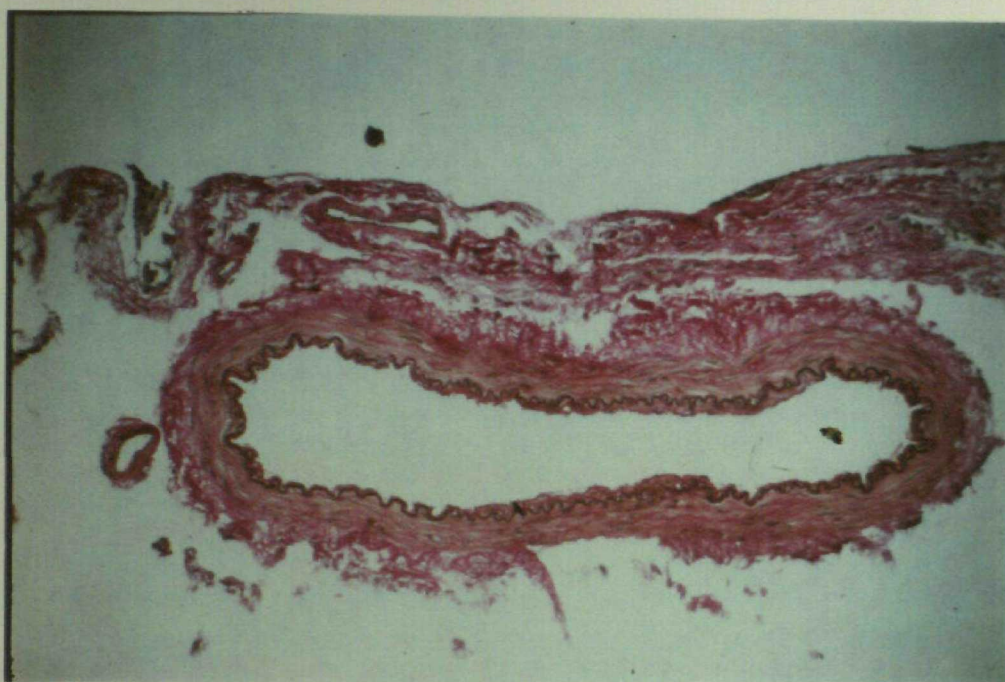


FIGURA 1

A.-Detalle de la convexidad cerebral donde se aprecian las arterias piales.

B.-Imagen histológica de una de estas arterias. Estructura de su pared en un corte transversal (Tinción H.E.)

los experimentos osciló entre 6-72 horas, con un tiempo medio de 24 ± 2 horas.

También se obtuvieron arterias procedentes de extirpaciones neuroquirúrgicas, conservadas de modo similar a las anteriores y se utilizaron para algunos estudios concretos.

PROCEDIMIENTO EXPERIMENTAL

El tejido vascular se colocaba en una cápsula de Petri sobre hielo con solución de Krebs-Henseleit y se procedía a su limpieza y selección con la ayuda de un microscopio Wild Heerburg M8. Se eligieron aquellos tramos de calibre más uniforme evitando las ramificaciones y se cortaron segmentos vasculares cilíndricos de 4 mm. de longitud.

Cada segmento vascular se colocó en un baño de órganos para registrar la contracción isométrica (Figura 2). El proceso de montaje consiste en pasar dos alambres de acero inoxidable rígidos (ambos de 150 micras de diámetro) a través de la luz del cilindro arterial. Uno de los alambres queda fijo a la pared del baño de órganos y el otro se desplaza paralelamente al anterior. Este desplazamiento es cuantificado mediante un tornillo micrométrico, lo que permite conocer la

distancia entre los dos alambres. El alambre móvil va unido a un transductor de fuerza (Universal Transducing Cell UC3, Statham Microscale Accesory UL5) que a su vez se conecta a un polígrafo (Beckman tipo R 411) donde se registran las variaciones de tensión producidas en la pared del segmento vascular.

Una vez montados los segmentos arteriales se aplicó una tensión pasiva de 1000 mg. que iba seguida de relajación, por lo que debía ajustarse periódicamente durante 60-90 minutos hasta equilibrarse a la tensión inicial. El líquido del baño era recambiado periódicamente.

El baño de órganos donde se colocaban los segmentos arteriales contenía 4 ml. de solución de Krebs-Henseleit, cuya composición es la siguiente: NaCl (115mM), KCl (4.6mM), CaCl_2 (2.5mM), KH_2PO_4 (1.2mM), MgSO_4 (1.2mM), NaHCO_3 (25mM), glucosa (11.1mM) y EDTA (3×10^{-5} M).

Esta solución era burbujeada con una mezcla de 95% de oxígeno y 5% de anhídrico carbónico, que le confería un pH de 7.3-7.4 y la temperatura del baño se mantenía a 37°C.

La diversidad de las características biológicas de los donantes y la variabilidad entre los tiempos transcurridos desde su fallecimiento hasta la utilización experimental de las arterias, aconsejó establecer unos parámetros de selección

que permitieran la homogeneización de las muestras. Estos consistieron en:

- 1.- Que los segmentos vasculares utilizados tuvieran un diámetro interno similar, y
- 2.- Que la respuesta contráctil de éstos al CLK fueran adecuada (mayor de 500 mg.).

Además, se tuvo en cuenta la posible dispersión de la respuesta vascular frente a los agonistas que pudieran derivarse del tiempo transcurrido desde la obtención de la muestra hasta su utilización experimental. Valorando la respuesta contráctil ante la sustancia activa durante los días 1º, 2º y 3º a partir de la extracción de los vasos, se comprobó si la diferencia resultaba estadísticamente significativa.

CALCULO DEL DIAMETRO INTERNO

El tornillo micrométrico acoplado a cada transductor de fuerza (Figura 2) permitía medir el desplazamiento del alambre móvil y por tanto, la distancia entre los dos alambres (d). A partir de este dato podíamos obtener la longitud de la circunferencia interna de la luz arterial (L) mediante la siguiente fórmula:

$$L = 2d + 4r + 2\pi r$$

en donde r es el radio de la sección del alambre

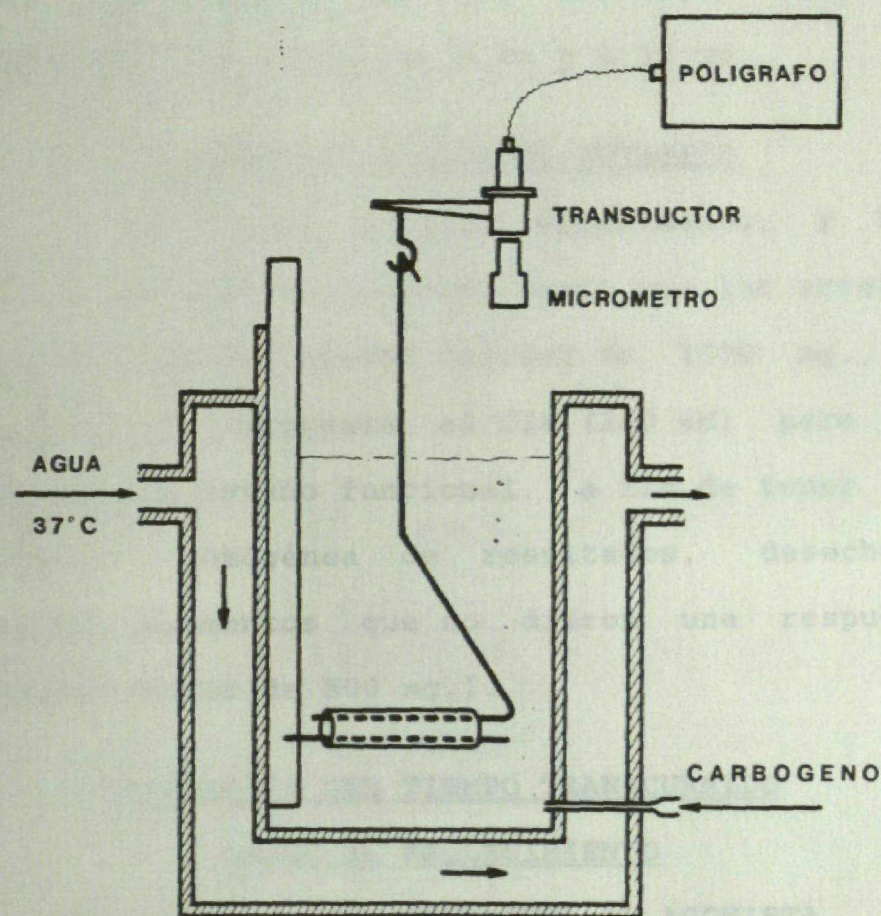


FIGURA 2

Esquema del baño de órganos y preparación experimental utilizados para registrar la contracción isométrica de los segmentos vasculares.

(Figura 3). De la longitud de la circunferencia interna podíamos determinar el diámetro interno vascular (diámetro interno = L/π) (164). EL valor medio del diámetro de los distintos cilindros vasculares utilizados fue 0.85 ± 0.25 mm.

RESPUESTA AL CLORURO POTASICO

Al final de cada experimento, y tras renovar el líquido del baño hasta que las arterias regresaban a la tensión inicial de 1000 mg., se registró la respuesta al ClK (160 mM) para así comprobar su estado funcional, a fin de tener una población homogénea de resultados, desechando aquellos segmentos que no dieron una respuesta adecuada (mayor de 500 mg.).

INFLUENCIA DEL TIEMPO TRANSCURRIDO

DESDE EL FALLECIMIENTO

EN LA RESPUESTA CONTRACTIL AL AGONISTA

Se eligió a tal efecto la respuesta frente a noradrenalina como agonista y se determinaron curvas dosis-efecto realizadas los días 1º, 2º y 3º tras el fallecimiento del donante. Se utilizaron los datos relativos al efecto máximo y la CE_{50} obtenidos cada día, comparando sus valores para comprobar si todos ellos eran homologables a los hallados el primer día y, por ende, si se podían dar por válidos los experimentos

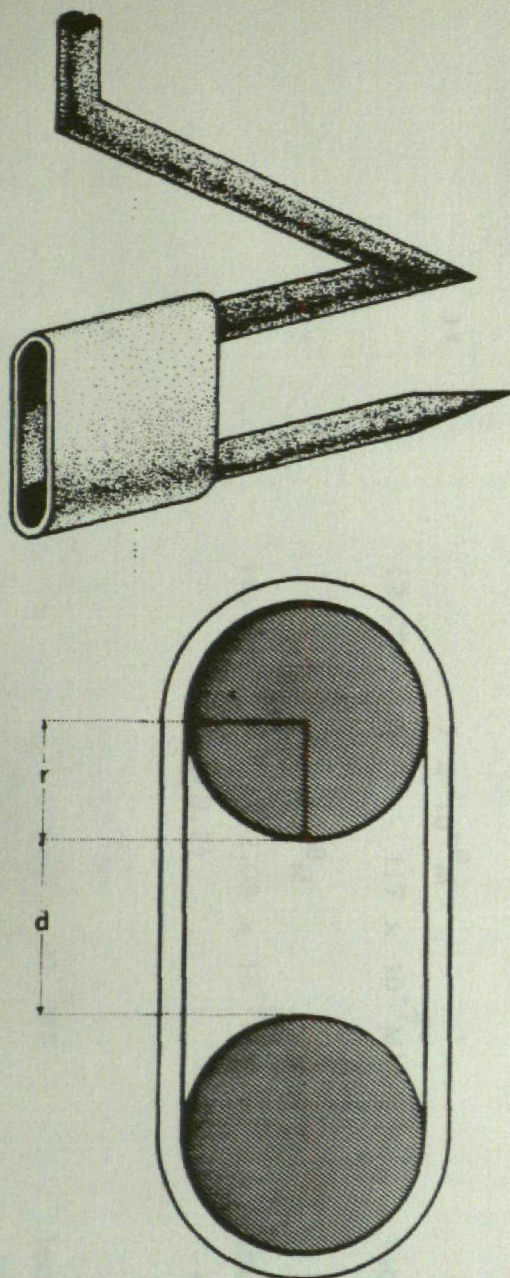


FIGURA 3

En la parte superior puede apreciarse el efecto de la tensión sobre la pared del vaso debido a la tracción que el alambre móvil ejerce, haciéndose evidente el desplazamiento del mismo.

En la parte inferior se esquematiza un corte transversal de la luz del vaso y los alambres una vez estabilizado el sistema a 1000 mg. de tensión. Se representa los datos que correspondan a la expresión: $L = 2d + 4r + 2\pi r$.

TABLA I

INFLUENCIA DEL TIEMPO POSTMORTEM EN LA RESPUESTA CONTRACTIL A NORADRENALINA

<u>DÍAS</u>	CE_{50} <u>(95% INTERVALO CONFIANZA)</u>	EFFECTO MAXIMO <u>mg \pm ES</u>	<u>N</u>
1º	$7 \times 10^{-8} M$ ($2.09 \times 10^{-8} M - 1.7 \times 10^{-7} M$)	1402 ± 152	14
2º	$3 \times 10^{-8} M$ ($4.3 \times 10^{-9} M - 2.09 \times 10^{-7} M$) ($p > 0.2$)	1044 ± 132 ($p > 0.1$)	9
3º	$1.2 \times 10^{-7} M$ ($1.5 \times 10^{-8} M - 9.8 \times 10^{-7} M$) ($p > 0.6$)	1600 ± 283 ($p > 0.1$)	2

N: Número de segmentos arteriales utilizados.

realizados en los días sucesivos.

En la Tabla I se resumen los valores de la CE_{50} y los de los efectos máximos. El análisis de estos datos demostró que no existía diferencia significativa entre los resultados correspondientes al primer día y los días segundo y tercero, respectivamente.

ESTUDIOS FARMACOLOGICOS

En este trabajo se llevó a cabo el estudio de la respuesta de las arterias cerebrales humanas a estímulos aminérgicos (noradrenalina, tiramina y serotonina), peptidérgicas (angiotensina II y vasopresina) y cloruro potásico.

Para ello se determinaron las curvas dosis-efecto para los agonistas noradrenalina (10^{-9} M- 3×10^{-4} M), tiramina (3×10^{-8} M- 10^{-3} M), serotonina (10^{-10} M- 3×10^{-5} M), angiotensina II (10^{-10} M- 3×10^{-6} M) y vasopresina (10^{-12} M- 10^{-6} M), así como para cloruro potásico (5mM-50mM).

El estudio con agonistas se hizo en ausencia y en presencia de antagonistas específicos: fentolamina (10^{-6} M), dietilamida del ácido lisérgico (LSD) (10^{-8} M y 10^{-7} M), 1-Sar-8-Ala-Angiotensina II (saralasina) (10^{-6} M) y (1-deaminopeniciliamina, 4-valina, 8-arginina) vasopresina (dPVDAVP) (10^{-6} M).

CURVAS DOSIS-EFECTO

Se determinaron curvas dosis-efecto de forma acumulativa para noradrenalina, tiramina, serotonina, angiotensina II, vasopresina y potasio en ausencia y presencia de antagonistas específicos. En ningún caso el volumen final añadido excedía el 10% del volumen inicial del baño. Las concentraciones de los fármacos se expresan como concentración molar final en el baño de órganos.

La respuesta contráctil producida por los fármacos empleados se midió al ser alcanzado el efecto máximo para cada dosis, expresando en miligramos los valores de la tensión desarrollada.

Cada antagonista era añadido al baño de órganos 10 minutos antes de comenzar la correspondiente curva dosis-respuesta.

Las soluciones concentradas de todos los fármacos utilizados se almacenaban a -15°C , excepto vasopresina y dPVDAVP, que lo hicieron a 4°C , y a partir de ellas se preparaban las diluciones utilizadas en cada experimento, que eran desechadas posteriormente. Tanto los fármacos concentrados como las diluciones se hacían en solución salina fisiológica con un 0.01% de ácido ascórbico para evitar su oxidación.

El número de segmentos arteriales procedentes de cada necropsia oscilaba entre 4 y 12, realizándose en cada uno de ellos una a tres curvas dosis-efecto.

CÁLCULO DE LA CE_{50} Y DEL PA_2

La concentración efectiva media (CE_{50}) es aquella que produce la mitad de la respuesta máxima de las curvas promedio y se calculó de la siguiente manera: se determinó, para cada curva dosis-efecto individual, la concentración de agonista que producía la mitad de la respuesta máxima y los logaritmos decimales de estos valores. Posteriormente se calculó la media aritmética de los mismos y se halló su antilogaritmo. Se fundamenta este método en que las dosis equipotentes están normalmente distribuidas cuando se expresan en forma de sus logaritmos, siendo el promedio de éstos la media geométrica de aquellas (73). De esta forma quedaban establecidos los valores medios de la CE_{50} y sus correspondientes intervalos de confianza.

En aquellos casos en que la interacción agonista-antagonista era la de un equilibrio de tipo competitivo -desplazándose a la derecha la curva obtenida en presencia del antagonista- el grado o magnitud de dicho antagonismo fue expresado

por la relación de dosis equipotentes (X) para el agonista en presencia y ausencia del antagonista, es decir:

$$X = \frac{CE_{50} \text{ de Agonista en presencia de Antagonista}}{CE_{50} \text{ de Agonista}}$$

Además se realizó el análisis de este antagonismo mediante el cálculo del pA_2 , definido como logaritmo negativo de la concentración molar de antagonista que hace necesario multiplicar por 2 la dosis de agonista para lograr un efecto similar al que se obtendría en ausencia del antagonista (208, 225). El valor del pA_2 puede obtenerse a partir de la expresión:

$$pA_2 = \log \frac{1}{Kb}$$

donde Kb es la constante de disociación aparente del complejo antagonista-receptor y se calcula, una vez conocida la relación de dosis equipotentes (X), de la siguiente forma:

$$Kb = \frac{B}{X - 1}$$

siendo B la concentración molar del antagonista (81).

ESTIMULACION ELECTRICA DE CAMPO

El estímulo eléctrico de campo de los segmentos vasculares se llevó a cabo utilizando un estimulador GRASS SD5 a través de dos electrodos de platino situados a ambos lados del segmento vascular, a 4 mm de distancia.

Se aplicaron estímulos a frecuencias de 2, 4, 8 y 16 Hz con pulsos de 0.2-0.4 mseg. de duración a voltaje supramáximo (aproximadamente 80 voltios).

ANALISIS DE LOS RESULTADOS

Los valores correspondientes a la tensión desarrollada por los segmentos arteriales - referidos en miligramos- se expresan como media \pm error standard.

Se aplicó el índice "t" de Student para la prueba de significación de promedios, teniendo en cuenta que una probabilidad menor del 5% en favor de la hipótesis de nulidad fue considerada como estadísticamente significativa (216).

El análisis estadístico de los datos fue realizado con la ayuda de un microordenador Hewlett-Pakard 41 C provisto de un módulo de aplicación estadística.

POTENCIALES RELATIVAS

En el presente trabajo se determinaron las curvas dosis-respuesta a serotonina, noradrenalina, tiramina, angiotensina II, vasopresina y potasio, y los resultados se resumen en la Figura 4. El orden de potencia de estos sustos de mayor a menor es el siguiente: vasopresina, serotonina, angiotensina II, noradrenalina, tiramina y potasio. La actividad de mayor a menor fue: vasopresina, angiotensina II y serotonina, noradrenalina y tiramina.

RESULTADOS

ESTIMULOS ADMINISTRADOS

1. NORADRENALINA

La adición de cantidades crecientes de noradrenalina al baño de órganos produjo una respuesta contráctil dependiente del tiempo tal como aparece en el ejemplo mostrado en la Figura 5. El efecto máximo producido por la noradrenalina fue de 1372 ± 124 mg para la dosis de 10^{-5} M. La media geométrica de ED_{50} (95% intervalo de confianza) fue 7.23×10^{-8} M (3.85×10^{-8} - 1.34×10^{-7} M) (Figura 5 y Tabla III).

La fentolamina (10^{-6} M), bloquea de los receptores alfa-adrenérgicos, produjo un desplazamiento hacia la derecha de la curva control

POTENCIALES RELATIVAS

En el presente trabajo se determinaron las curvas dosis-respuesta a serotonina, noradrenalina, tiramina, angiotensina II, vasopresina y potasio, y los resultados se resumen en la Figura 4. El orden de potencia de estas sustancias de mayor a menor es el siguiente: vasopresina, serotonina, angiotensina II, noradrenalina, tiramina y potasio. La actividad intrínseca de mayor a menor fue: vasopresina, potasio, tiramina, noradrenalina, serotonina y angiotensina II (Tabla II).

ESTIMULOS ADRENERGICOS.

1. NORADRENALINA

La adición de cantidades crecientes de noradrenalina al baño de órganos produce una respuesta contráctil dependiente de la dosis tal como aparece en el ejemplo mostrado en la Figura 5. El efecto máximo producido por la noradrenalina fue de 1378 ± 124 mg. para la dosis de 10^{-5} M. La media geométrica CE_{50} (95% de intervalo de confianza) fue 7.23×10^{-8} M (3.89×10^{-8} M - 1.34×10^{-7} M) (Figura 6 y Tabla III).

La fentolamina (10^{-6} M), bloqueante de los receptores alfa-adrenérgicos, produjo un desplazamiento hacia la derecha de la curva control

de noradrenalina (Figuras 5 y 6).

Este desplazamiento de la curva dosis-efecto hacia la derecha fue de 129.05 veces sin afectar la respuesta máxima (1014 ± 116 mg.) ($p > 0.05$). El valor de PA_2 para este antagonismo fue de 8.11 (Figura 5 y Tabla III).

2. TIRAMINA

La tiramina produjo una respuesta contráctil cuya magnitud dependía de la dosis (Figura 7). La respuesta máxima obtenida fue de 1517 ± 113 mg. para la concentración de $10^{-3}M$. La media geométrica CE_{50} (95% de intervalo de confianza) fue $3.40 \times 10^{-5}M$ ($2.06 \times 10^{-5}M - 5.6 \times 10^{-5}M$) (Figura 8 y Tabla IV).

Para comprobar si los receptores alfa-adrenérgicos estaban implicados en la respuesta producida por tiramina se determinó la curva dosis-efecto de esta amina en presencia de fentolamina ($10^{-6}M$). Este antagonista no produjo desplazamiento de la curva control ni disminuyó el efecto máximo de forma significativa, como puede observarse en el ejemplo representado en las Figuras 7 y 8. La CE_{50} (95% de intervalo de confianza) con un valor de $3.25 \times 10^{-5}M$ ($1.47 \times 10^{-5}M - 7.38 \times 10^{-5}M$) no es significativamente diferente a la curva control ($p > 0.1$) (Tabla IV).

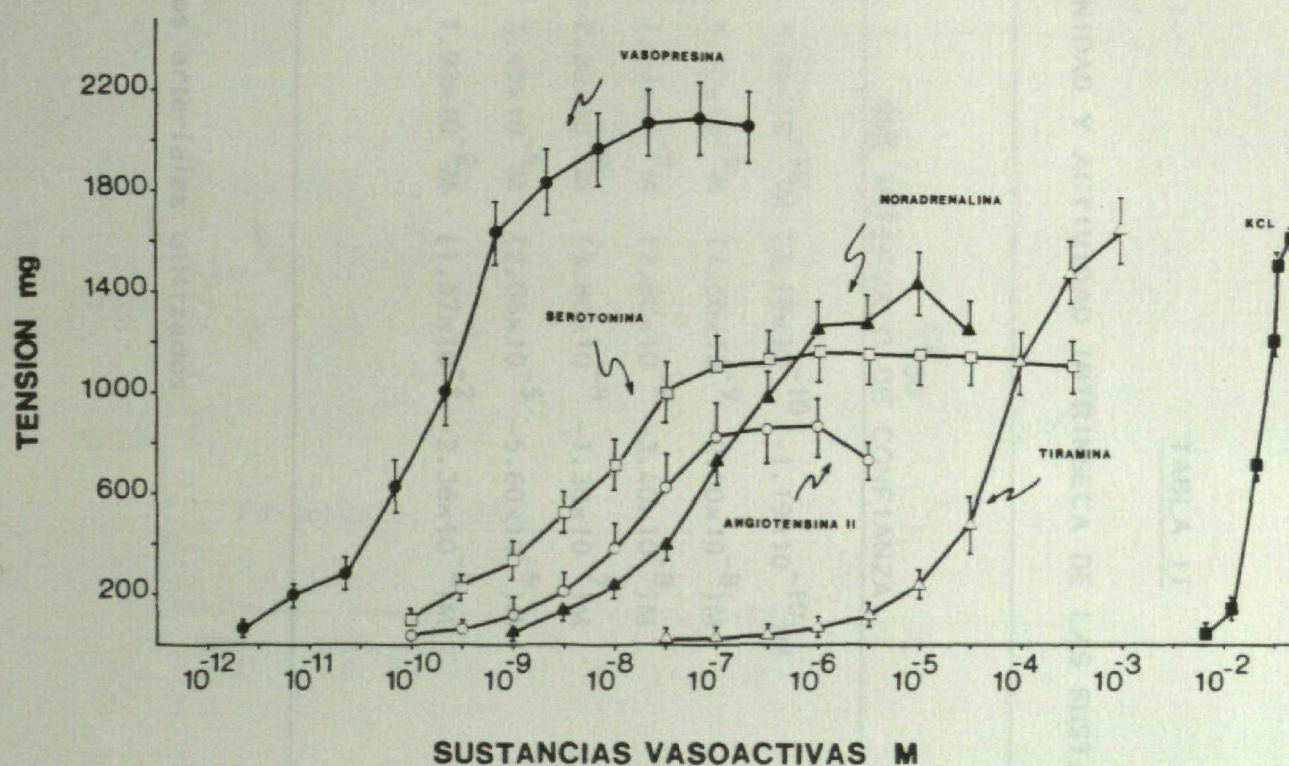


FIGURA 4

Curvas dosis-respuesta para la noradrenalina, serotonina, tiramina, vasopresina, angiotensina II y cloruro potásico.

Cada punto representa el valor medio y las barras verticales el error standard.

TABLA II

AFINIDAD Y ACTIVIDAD INTRINSECA DE LAS SUSTANCIAS UTILIZADAS

AGONISTA	CE ₅₀		RESPUESTA MAXIMA (mg)	N
	95% INTERVALO DE CONFIANZA			
VASOPRESINA	1.94x10 ⁻¹⁰ M (3.18x10 ⁻¹⁰ -1.19x10 ⁻¹⁰)M		2003 ± 196	23
SEROTONINA	5.50x10 ⁻⁹ M (1.50x10 ⁻⁹ -2.00x10 ⁻⁸)M		1171 ± 120	14
ANGIOTENSINA II	1.63x10 ⁻⁸ M (7.80x10 ⁻⁹ -3.40x10 ⁻⁸)M		877 ± 129	24
NORADRENALINA	7.20x10 ⁻⁸ M (3.80x10 ⁻⁸ -1.30x10 ⁻⁷)M		1378 ± 124	15
TIRAMINA	3.40x10 ⁻⁵ M (2.06x10 ⁻⁵ -5.60x10 ⁻⁵)M		1517 ± 113	20
CIK	1.93x10 ⁻² M (1.57x10 ⁻² -2.36x10 ⁻²)M		1602 ± 84	14

N: Número de segmentos arteriales utilizados

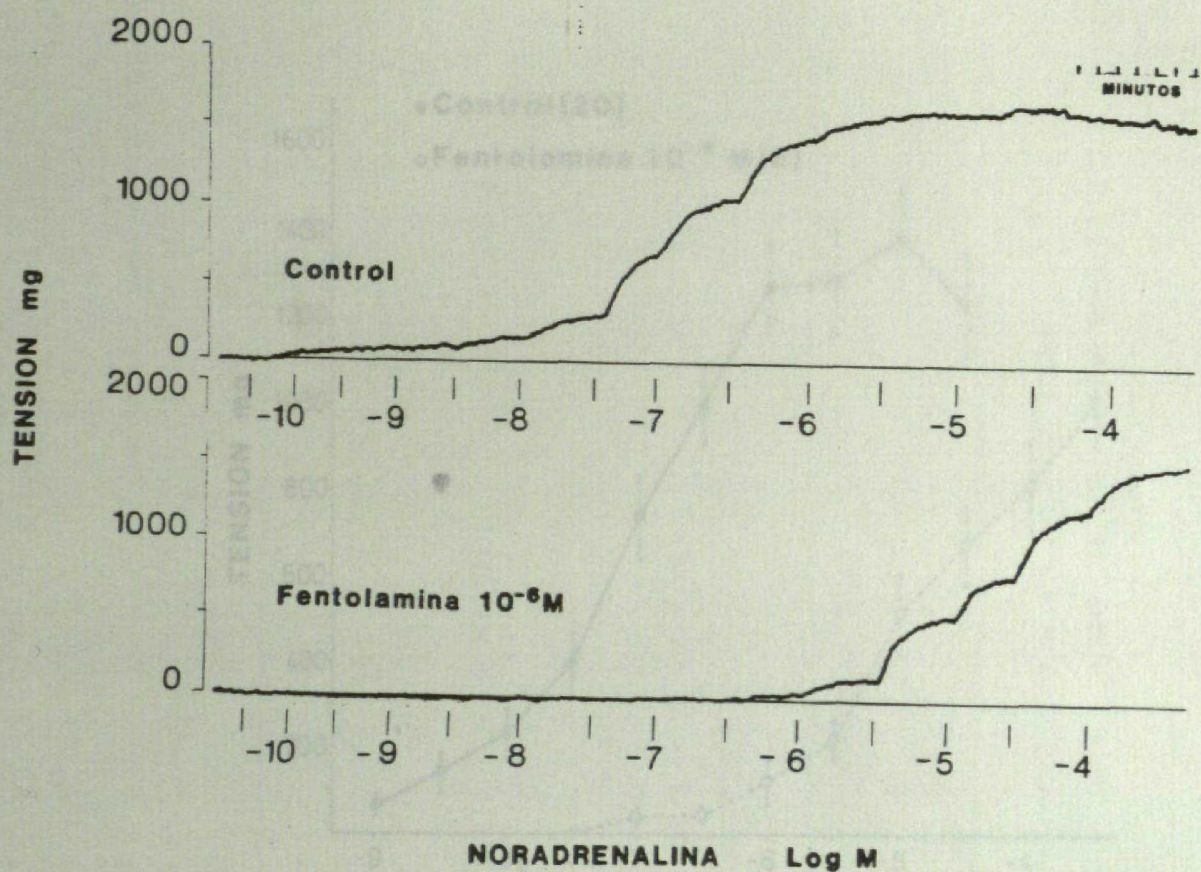


FIGURA 5

Registro de la contracción producida por noradrenalina en un segmento de arteria cerebral humana en ausencia y en presencia de fentolamina ($10^{-6}M$).

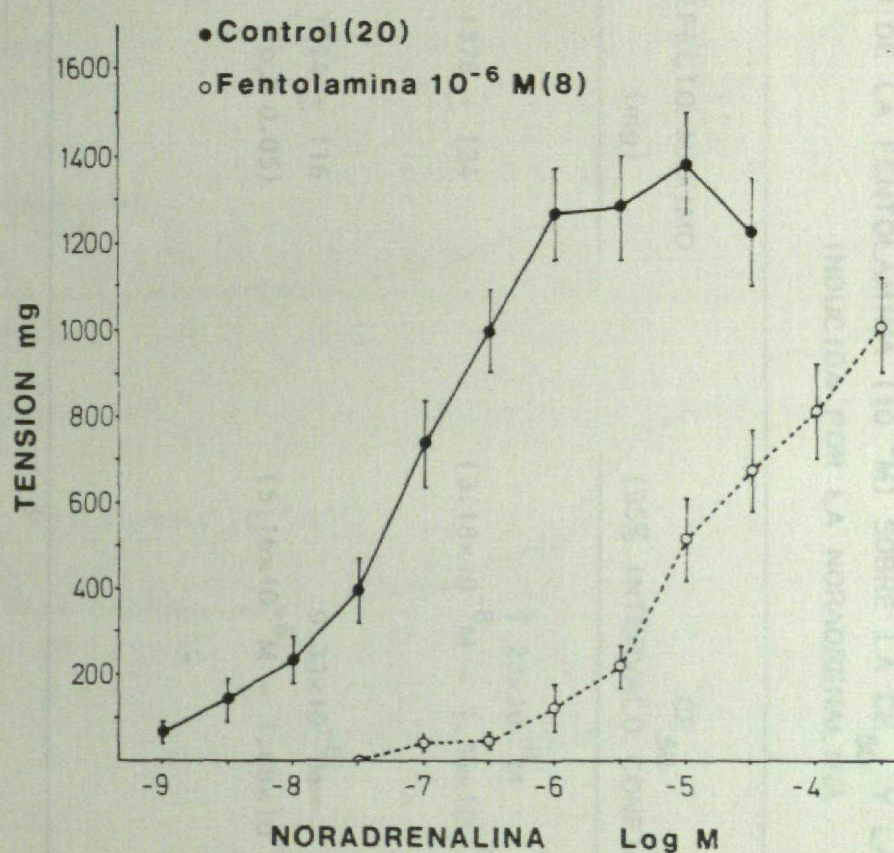


FIGURA 6

Efecto de la fentolamina (10^{-6} M) sobre la curva dosis-respuesta a la noradrenalina.

Entre paréntesis se indica el número de segmentos utilizados para cada curva.

TABLA III

EFFECTO DE LA FENTOLAMINA (10^{-6} M) SOBRE LA CE_{50} Y LA TENSION MAXIMA INDUCIDA POR LA NORADRENALINA

	EFFECTO MAXIMO (mg)	CE_{50} (95% INTERVALO CONFIANZA)	N	pA_2
CONTROL	1378 ± 124	7.23×10^{-8} M (3.18×10^{-8} M - 1.34×10^{-7} M)	20	
FENTOLAMINA	1014 ± 116 ($p > 0.05$)	9.33×10^{-6} M (5.16×10^{-6} M - 1.68×10^{-5} M)	8	8.1

N: Número de segmentos arteriales utilizados

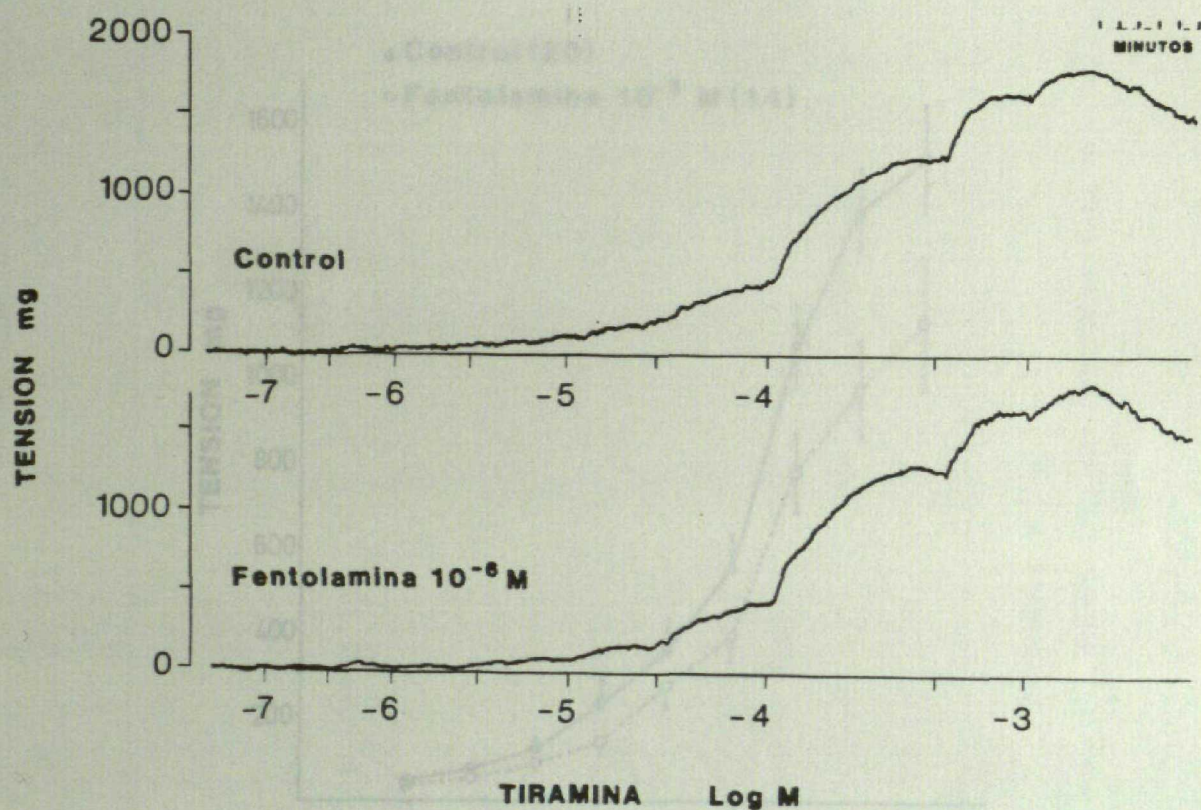


FIGURA 7

Registro de la contracción producida por la tiramina en un segmento de arteria cerebral humana en ausencia y en presencia de fentolamina (10^{-6} M).

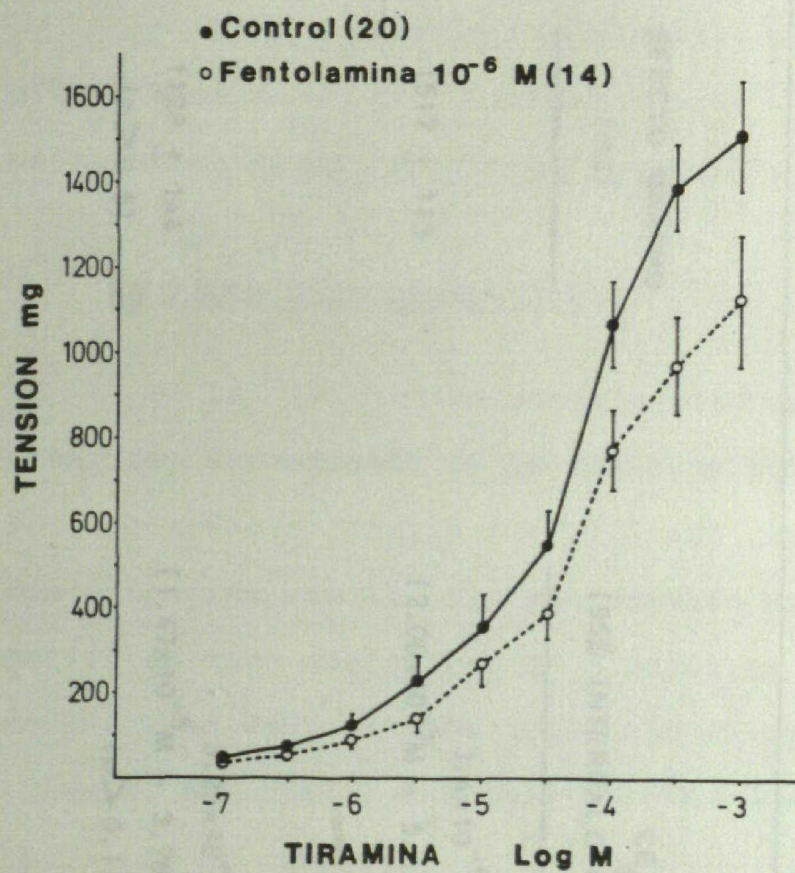


FIGURA 8

Efecto de la fentolamina (10^{-6} M) sobre la curva dosis-respuesta producida por la tiramina.

TABLA IV

EFFECTO DE LA FENTOLAMINA (10^{-6} M) SOBRE LA CE_{50} Y LA RESPUESTA MAXIMA A LA TIRAMINA

	EFFECTO MAXIMO (mg)	CE_{50} (95% INTERVALO DE CONFIANZA)	N
CONTROL	1517 ± 113	3.4×10^{-5} M (2.06×10^{-5} M - 5.61×10^{-5} M)	20
FENTOLAMINA	1128 ± 144 ($p > 0.5$)	3.25×10^{-5} M (1.47×10^{-5} M - 3.78×10^{-5} M) ($p > 0.1$)	14

N: Número de segmentos arteriales estudiados.

3. ESTIMULACION ELECTRICA DE CAMPO

La estimulación eléctrica de campo de 12 segmentos arteriales procedentes de necropsias no produjo ningún efecto valorable.

Esto ocurrió igualmente al estimular eléctricamente 16 preparaciones vasculares procedentes de extirpaciones neuroquirúrgicas.

ESTIMULO SEROTONINERGICO.

La serotonina produjo contracción de las arterias dependiendo de la dosis aplicada (Figura 9). El efecto máximo fue 1171 ± 120 mg. para la concentración de 10^{-6} M, manteniendo una meseta a partir de esta concentración a pesar de aumentar la dosis. La CE_{50} (95% de intervalo de confianza) fue 5.56×10^{-9} M (1.54×10^{-9} M - 2.0×10^{-8} M) (Figura 10 y Tabla V).

La presencia de LSD, bloqueante de los receptores triptaminérgicos, a concentraciones de 10^{-8} M y 10^{-7} M, no produjo desplazamiento de la curva control, pero disminuyó significativamente el efecto máximo de la serotonina. Este fue 787 ± 10 mg. en presencia de LSD a 10^{-8} M ($p < 0.05$) y 700 ± 95 mg. en presencia de LSD a 10^{-7} M ($p < 0.05$). el valor de la CE_{50} (95% de intervalo de confianza) fue 4.53×10^{-9} M (1.17×10^{-9} M - 1.75×10^{-8} M) y 4.86×10^{-9} M (1.48×10^{-9} M - 1.6×10^{-8} M) para las concentraciones

de LSD 10^{-8} M y 10^{-7} M, respectivamente, no habiendo diferencia significativa con respecto a la curva control ($p>0.6$) (Figura 10 y Tabla V).

La presencia de fentolamina (10^{-6} M) no modificó la curva dosis-respuesta control de la serotonina.

ESTIMULOS PEPTIDERGICOS.

1. ANGIOTENSINA II

La adición de dosis crecientes de angiotensina II al baño de órganos produjo una respuesta contráctil del segmento arterial dependiente de la dosis (Figura 11). El efecto máximo alcanzado fue 877 ± 129 mg. para la concentración de 10^{-7} M y la CE_{50} (95% de intervalo de confianza) fue 1.63×10^{-8} M (7.08×10^{-9} M - 3.48×10^{-8} M) (Figura 12 y Tabla VI).

En presencia de saralasina (10^{-6} M), bloqueante de los receptores vasculares de angiotensina II, la curva dosis-respuesta control se desplazó a la derecha y el efecto máximo fue 712 ± 196 mg., no siendo significativamente distinto ($p>0.7$) del obtenido en la curva control (Figuras 11 y 12). Este desplazamiento de la curva dosis-respuesta fue de 21.53 veces y el PA_2 para este antagonismo fue 7.35 (Figura 12 y Tabla VI).

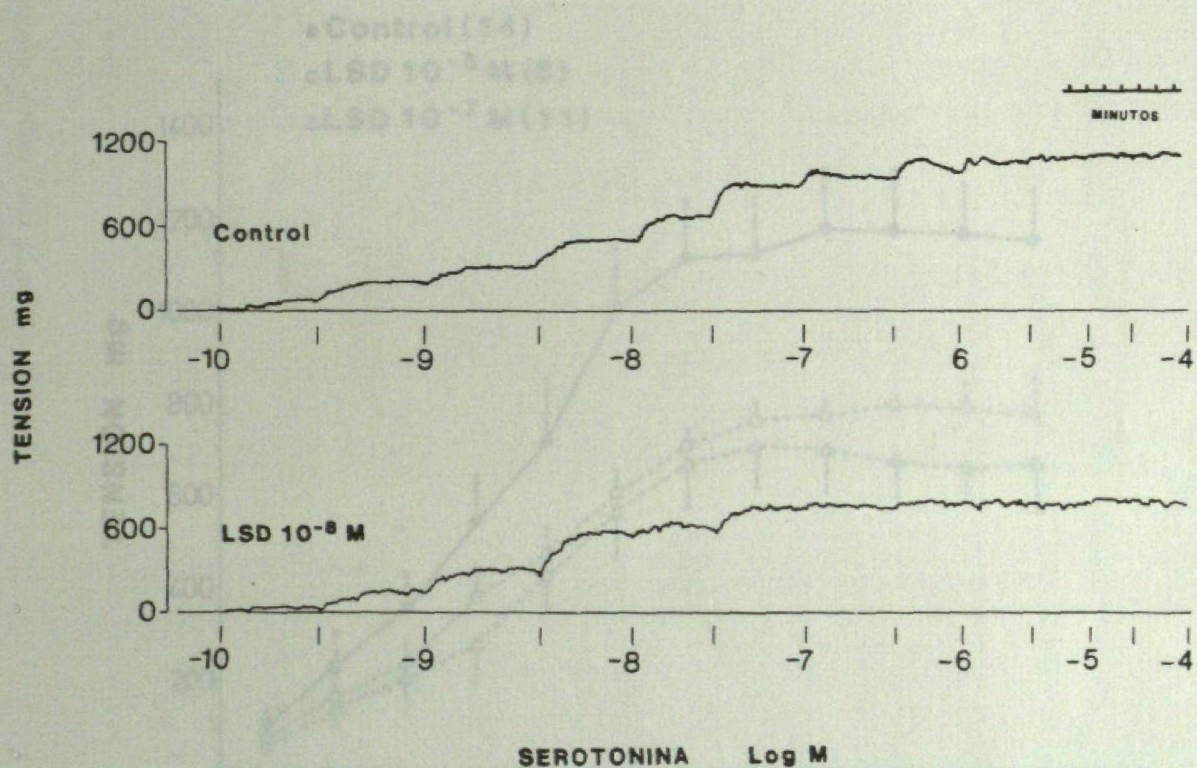


FIGURA 9

Registro de la contracción producida por la serotonina en un segmento de arteria cerebral humana en ausencia y en presencia de LSD (10^{-8} M).

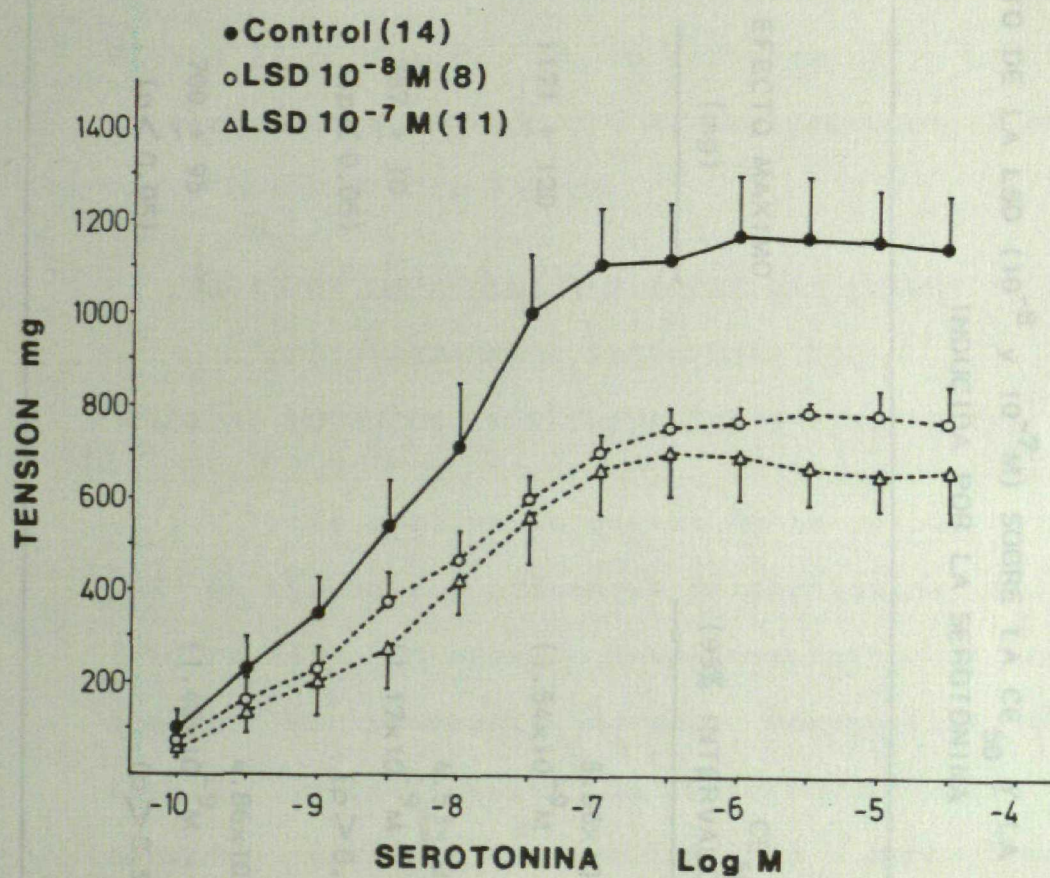


FIGURA 10

Efecto de LSD (10^{-8} M y 10^{-7} M) sobre la curva dosis-respuesta a la serotonina.

TABLA V

EFFECTO DE LA LSD (10^{-8} y 10^{-7} M) SOBRE LA CE_{50} Y LA RESPUESTA MAXIMA INDUCIDA POR LA SEROTONINA

	EFFECTO MAXIMO (mg)	CE_{50} (95% INTERVALO CONFIANZA)	N
CONTROL	1171 ± 120	5.56×10^{-9} M (1.54×10^{-9} M - 2.0×10^{-8} M)	14
LSD (10^{-8} M)	787 ± 10 ($p < 0.05$)	4.53×10^{-9} M (1.17×10^{-9} M - 1.75×10^{-8} M) ($p > 0.8$)	8
LSD (10^{-7} M)	700 ± 95 ($p < 0.05$)	4.86×10^{-9} M (1.48×10^{-9} M - 1.6×10^{-8} M) ($p > 0.8$)	11

N: Número de segmentos arteriales utilizados.

Para analizar si la respuesta obtenida con angiotensina II también estaba mediada por activación de receptores adrenérgicos-alfa, se estudiaron los efectos de la fentolamina (10^{-6} M) sobre la respuesta vascular de este péptido. En la Figura 13 se observa que la fentolamina no modificó la respuesta producida por la angiotensina II en la curva dosis-efecto control.

EFECTO DE LA SARALASINA SOBRE LAS CURVAS
DOSIS-RESPUESTA PRODUCIDAS POR
CLORURO POTASICO, NORADRENALINA Y VASOPRESINA

Se realizaron curvas dosis-respuesta para ClK en ausencia y presencia de saralasina (10^{-6} M) (Figura 14). No aparece desplazamiento de la curva control en presencia de este antagonista y no resulta significativa la diferencia entre la tensión máxima desarrollada en ambos casos ($p > 0.05$).

Para comprobar si la saralasina interfería la acción de la noradrenalina exógena se realizaron curvas dosis-respuesta para este agonista en ausencia y presencia de saralasina (10^{-6} M). En la Figura 15 se pone de manifiesto la no modificación de la curva control en presencia de este antagonista, no hallándose una diferencia significativa entre los efectos máximos ($p > 0.05$).

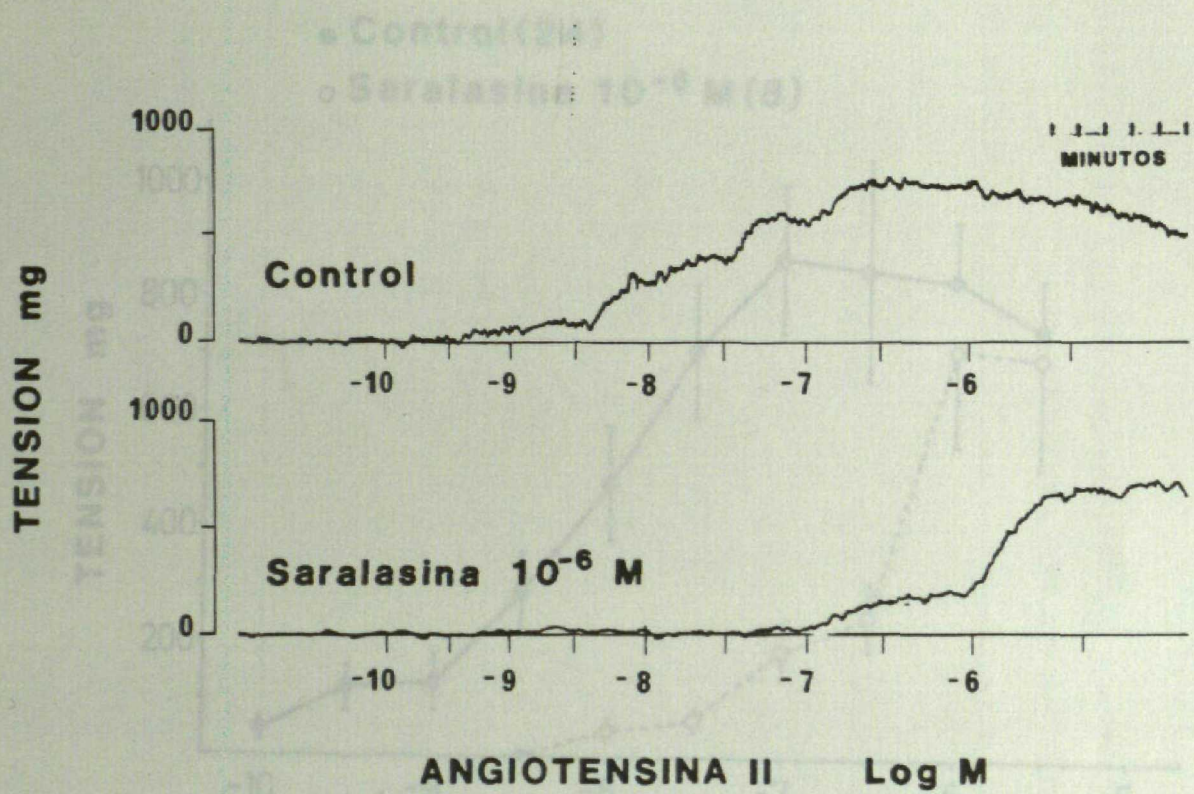


FIGURA 11

Registro de la contracción producida por angiotensina II en ausencia y en presencia de saralasin (10^{-6} M).

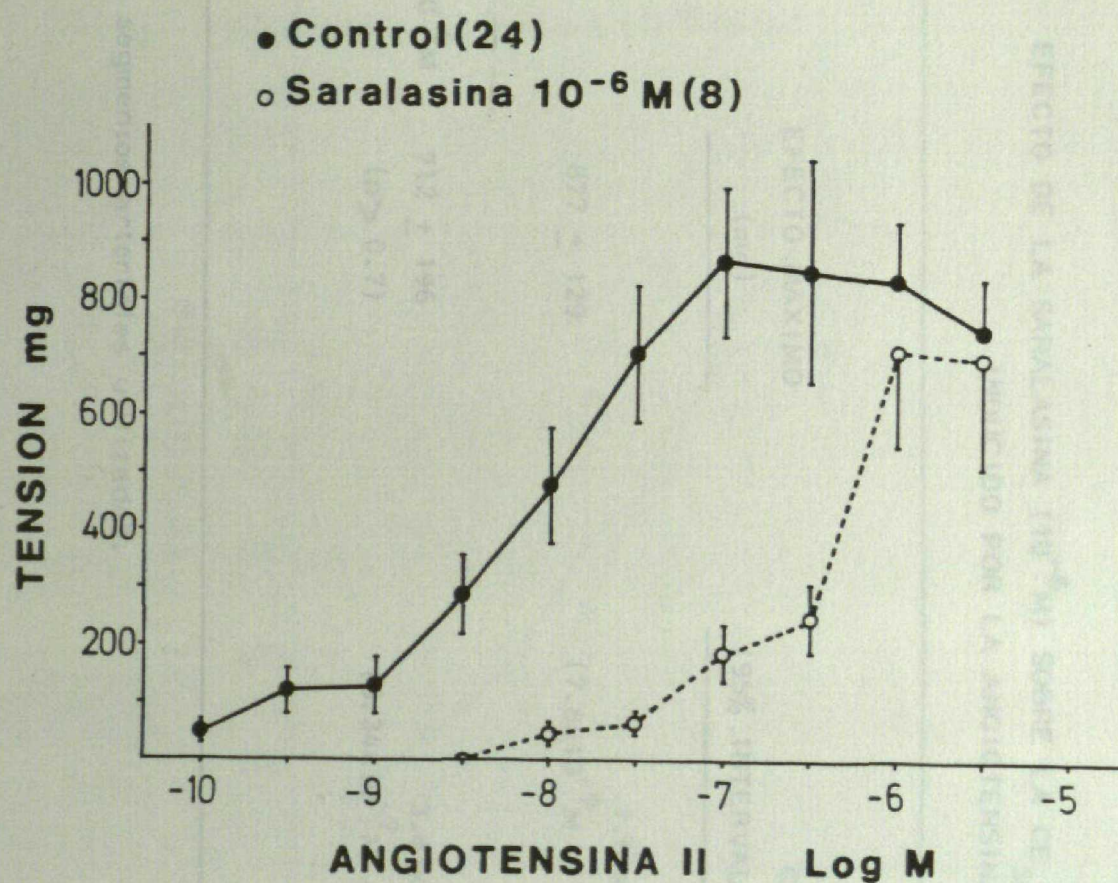


FIGURA 12

Efecto de saralasin (10^{-6} M) sobre la curva dosis-respuesta para la angiotensina II en arteria cerebral humana.

TABLA VI

EFFECTO DE LA SARALASINA (10^{-6} M) SOBRE LA CE_{50} Y EL EFECTO MAXIMO
INDUCIDO POR LA ANGIOTENSINA II

	EFFECTO MAXIMO (mg)	CE_{50} (95% INTERVALO CONFIANZA)	N	pA_2
CONTROL	877 ± 129	1.63×10^{-8} M (7.8×10^{-9} M - 3.48×10^{-8} M)	24	
SARALASINA 10^{-6} M	712 ± 196 ($p > 0.7$)	3.83×10^{-7} M (5.34×10^{-7} M - 2.78×10^{-7} M)	8	7.35

N= Número de segmentos arteriales utilizados.

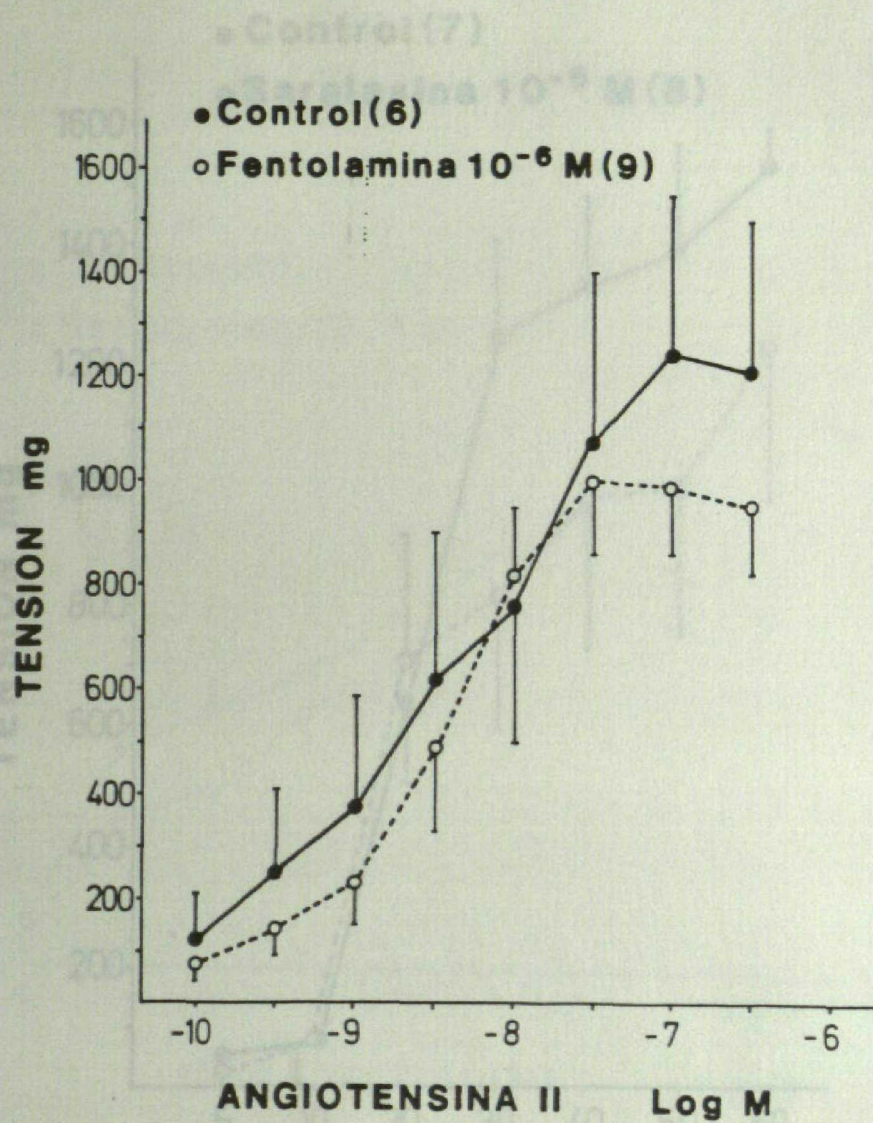


FIGURA 13

Efecto de la fentolamina (10^{-6} M) sobre la curva dosis-respuesta al fluorocloruro de angiotensina II.

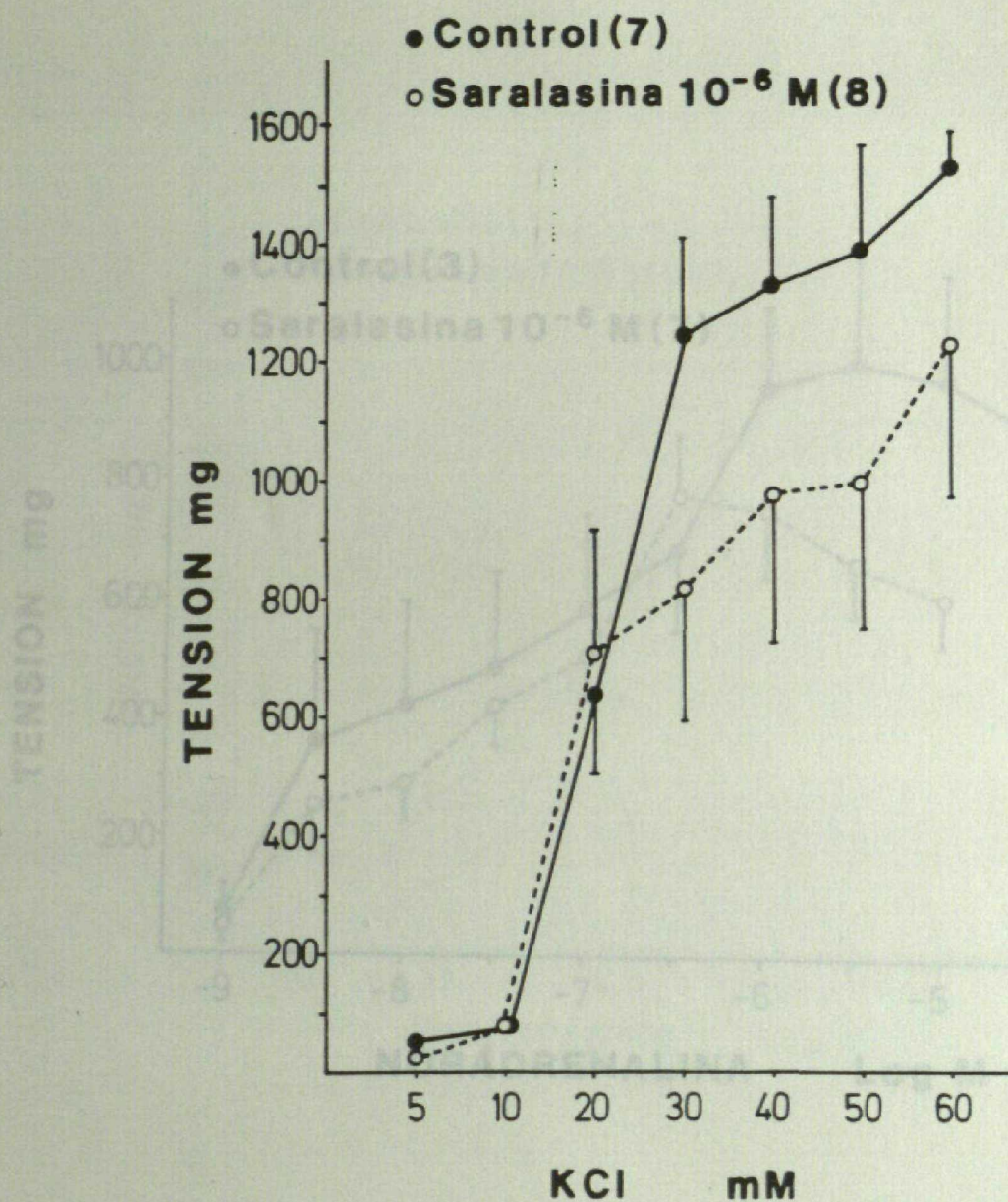


FIGURA 14

Efecto de la saralasin (10^{-6} M) sobre la curva dosis-respuesta al cloruro potásico en arterias cerebrales humanas.

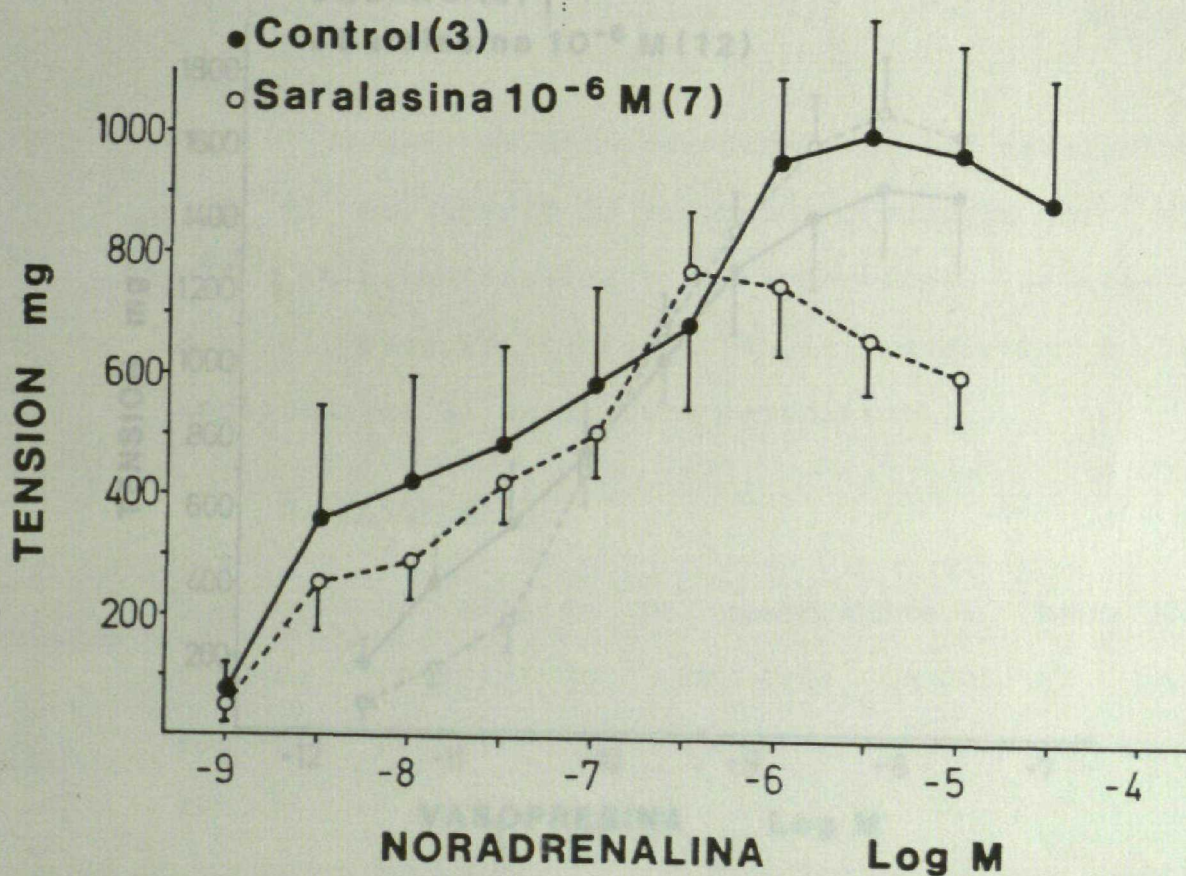


FIGURA 15

Efecto de la saralasin (10^{-6} M) sobre la curva dosis-respuesta a la noradrenalina en segmentos de arteria cerebral humana.

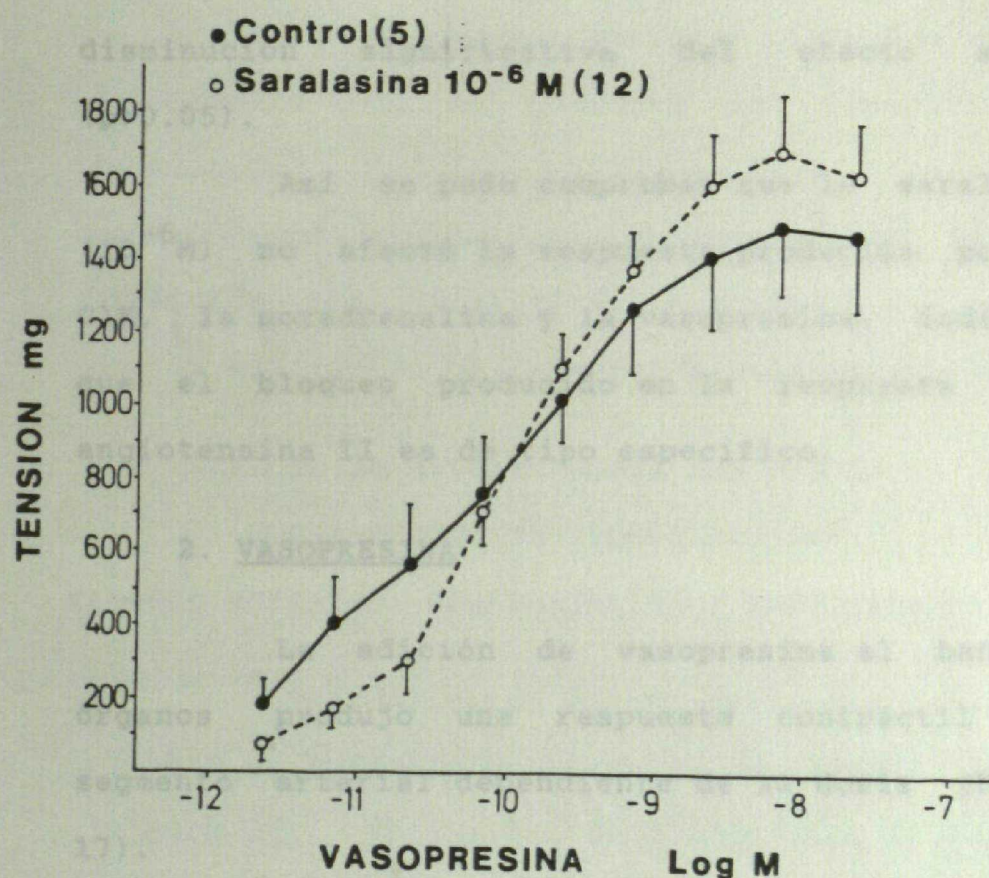


FIGURA 16

Efecto de la saralasinina (10^{-6} M) sobre la curva dosis-respuesta a la vasopresina en segmentos de arterias cerebrales humanas.

Realizadas las curvas dosis-respuesta para vasopresina en ausencia y presencia de saralasina ($10^{-6}M$) (Figura 16), no se encontró desplazamiento de la curva control ni una disminución significativa del efecto máximo ($p>0.05$).

Así se pudo comprobar que la saralasina ($10^{-6}M$) no afectó la respuesta producida por el ClK, la noradrenalina y la vasopresina, indicando que el bloqueo producido en la respuesta a la angiotensina II es de tipo específico.

2. VASOPRESINA

La adición de vasopresina al baño de órganos produjo una respuesta contráctil del segmento arterial dependiente de la dosis (Figura 17).

El efecto máximo fue 2003 ± 196 mg. para la concentración de $2.4 \times 10^{-8}M$ y la CE_{50} (95% de intervalo de confianza) fue $1.94 \times 10^{-10}M$ ($3.18 \times 10^{-10}M$ - $1.19 \times 10^{-10}M$) (Figura 18 y Tabla VII).

La presencia de dPVDAVP ($10^{-6}M$), bloqueante de los receptores vasculares de vasopresina, desplazó hacia la derecha la curva control (Figuras 17 y 18) y el efecto máximo fue 1822 ± 263 mg., no siendo significativamente distinto ($p>0.9$) del obtenido en ausencia del

antagonista (Figura 18).

La curva dosis-efecto se desplazó 281.44 veces y el PA_2 para este antagonismo fue 8.45 (Figura 18 y Tabla VII).

La respuesta vascular producida por la vasopresina no se modificó en presencia de fentolamina ($10^{-6}M$) (Figura 19). con esto pretendíamos analizar si la contracción vascular producida por la vasopresina estaba o no mediada por la activación de receptores alfa-adrenérgicos.

EFFECTO DE dPVDAVP SOBRE LAS CURVAS

DOSIS-RESPUESTA PRODUCIDAS POR CLORURO POTASICO, NORADRENALINA Y ANGIOTENSINA II

Se realizaron curvas dosis-respuesta para el ClK en ausencia y presencia de dPVDAVP ($10^{-6}M$) (Figura 20). No aparece desplazamiento de la curva control hacia la derecha en presencia de este antagonista y no es significativa la diferencia existente entre la tensión máxima desarrollada en ambos casos ($p>0.05$).

Para comprobar si dPVDAVP interfería con la acción de la noradrenalina exógena, se obtuvieron curvas dosis-respuesta para noradrenalina en ausencia y presencia de dPVDAVP ($10^{-6}M$) (Figura 21). Se observa la no modificación de la curva control en presencia de este

antagonista, no hallándose una diferencia significativa entre los efectos máximos ($p > 0.05$).

Con el fin de establecer si el antagonista de los receptores vasculares para vasopresina, dPVDAVP, interfería el efecto contráctil de la angiotensina II, se utilizaron curvas dosis-respuesta para dicho péptido en ausencia y presencia de dPVDAVP (10^{-6} M) (Figura 22). No se observó desplazamiento de la curva control en presencia de este antagonista ni una disminución significativa del efecto máximo ($p > 0.05$).

Así se pudo comprobar que dPVDAVP no modificó las curvas dosis-efecto obtenidas con cloruro potásico, noradrenalina y angiotensina II, indicando que el bloqueo producido en la respuesta a la vasopresina es de tipo específico.

D. CLORURO POTASICO : CURVA DOSIS-RESPUESTA.

El cloruro potásico produce contracción vascular mediante despolarización de la membrana de la fibra muscular lisa. Esta sustancia se ha utilizado como prueba para comparar sus efectos contráctiles con los producidos por los demás fármacos y para valorar el estado funcional de los segmentos vasculares. La Figura 4 muestra la curva dosis-respuesta resumiendo los efectos producidos por el cloruro potásico. La contracción vascular

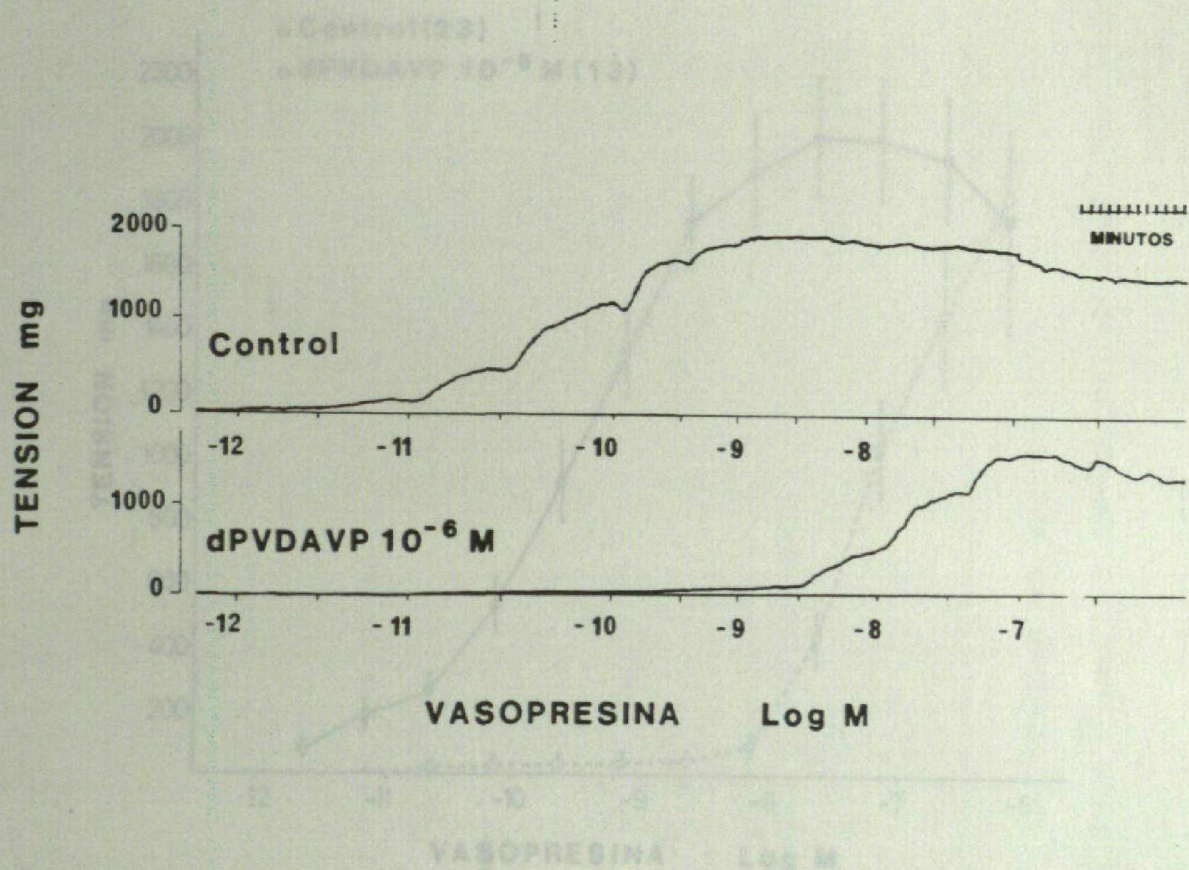


FIGURA 17

Ejemplo de la contracción producida por la vasopresina en un segmento de arteria cerebral humana en ausencia y en presencia de dPVDAVP (10^{-6} M).

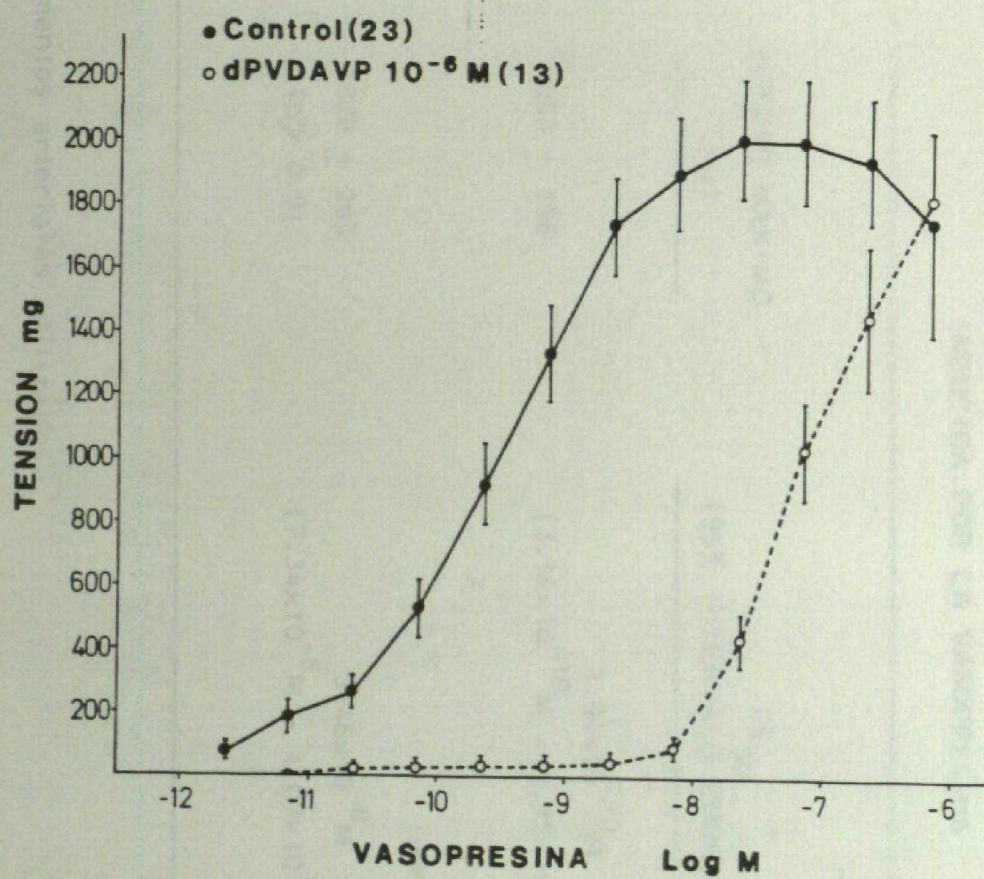


FIGURA 18

Efecto de dPVDAVP (10^{-6} M) sobre la curva dosis-respuesta a la vasopresina.

TABLA VII

EFFECTO DE dPVDAVP (10^{-6} M) SOBRE LA CE_{50} Y LA RESPUESTA MAXIMA INDUCIDA POR LA VASOPRESINA

	EFFECTO MAXIMO (mg)	CE_{50} (95% INTERVALO CONFIANZA)	N	pA_2
CONTROL	2003 ± 196	$1.94 \times 10^{-10} M$ ($3.18 \times 10^{-10} M - 1.19 \times 10^{-10} M$)	23	
dPVDAVP	1822 ± 263 ($p > 0.9$)	$5.46 \times 10^{-8} M$ ($7.34 \times 10^{-8} M - 4.07 \times 10^{-8} M$)	20	8.45

N= Número de segmentos arteriales utilizados.

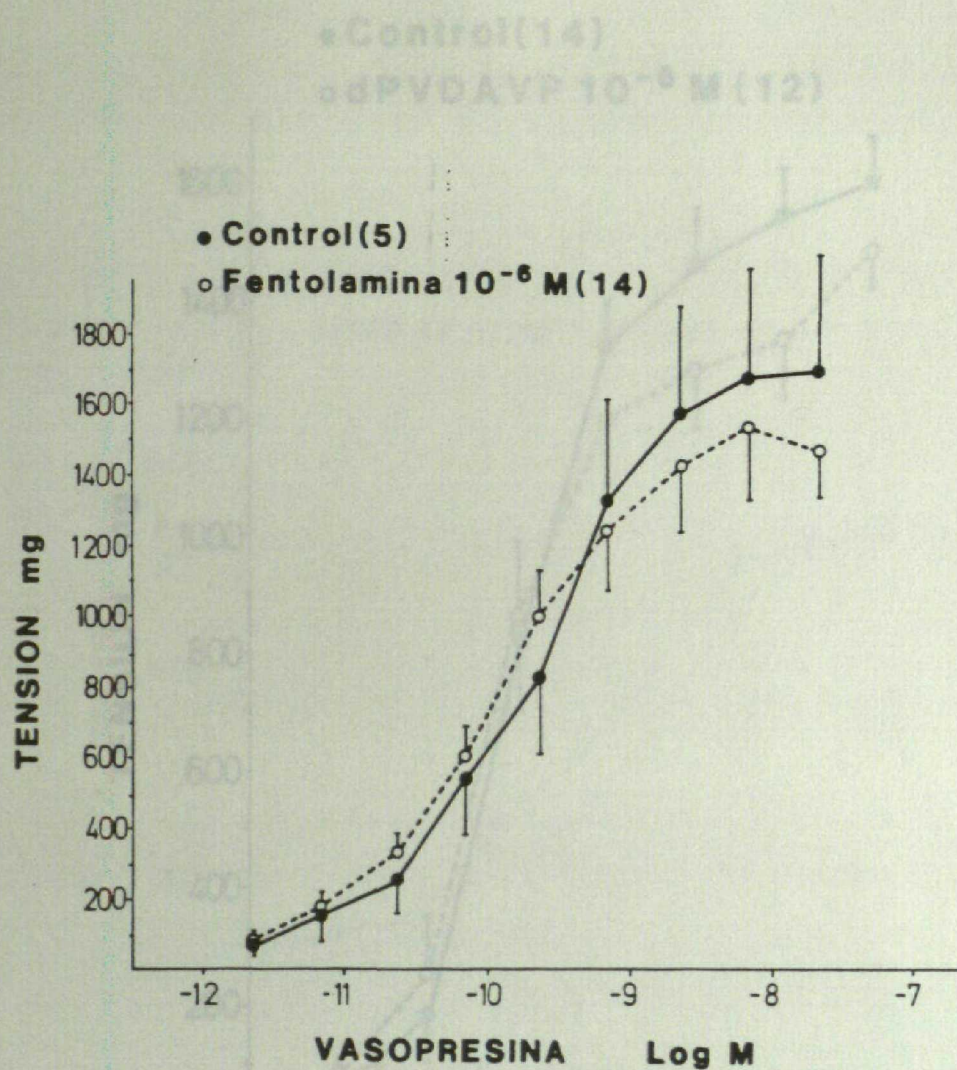


FIGURA 19

Efecto de la fentolamina (10^{-6} M) sobre la curva dosis-respuesta a la vasopresina.

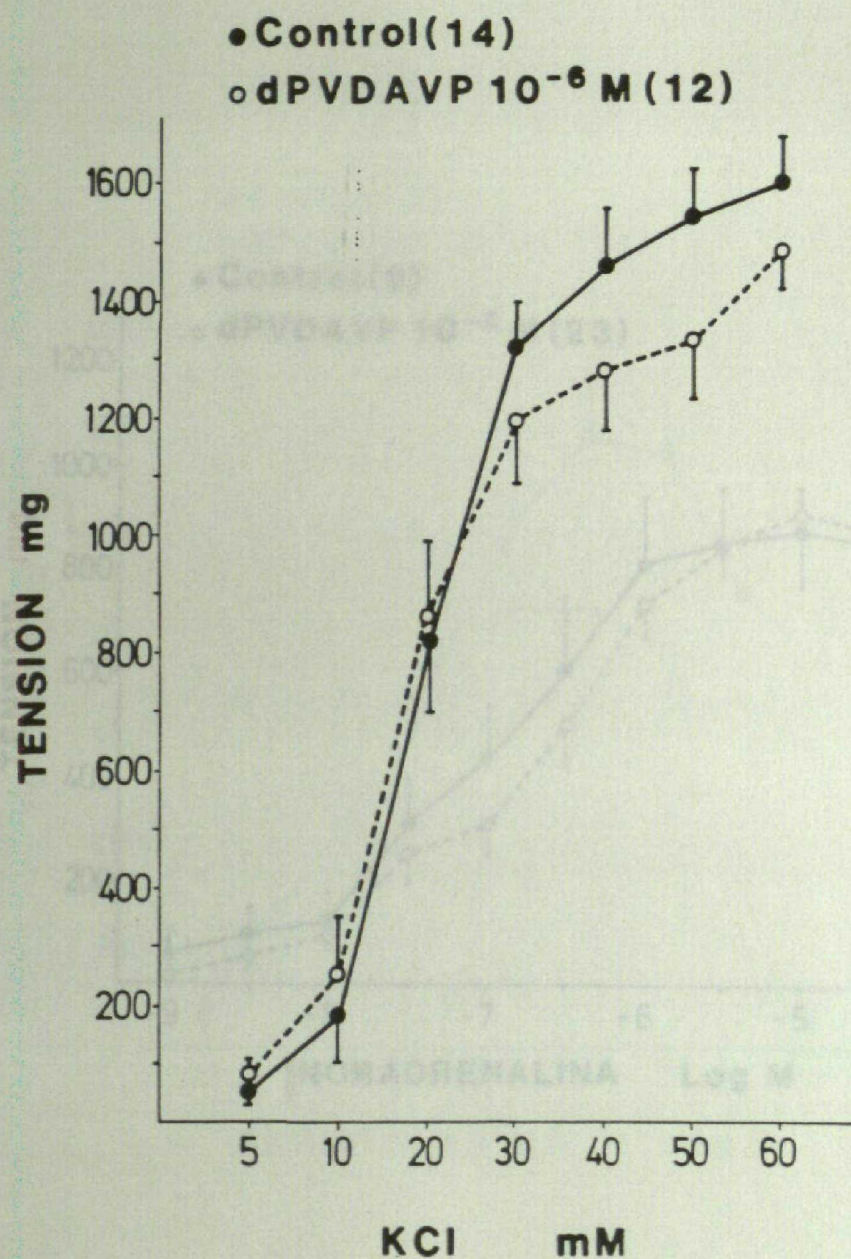


FIGURA 20

Efecto de dPVDAVP (10^{-6} M) sobre la curva dosis-respuesta a cloruro potásico en segmentos de arteria cerebral humana.

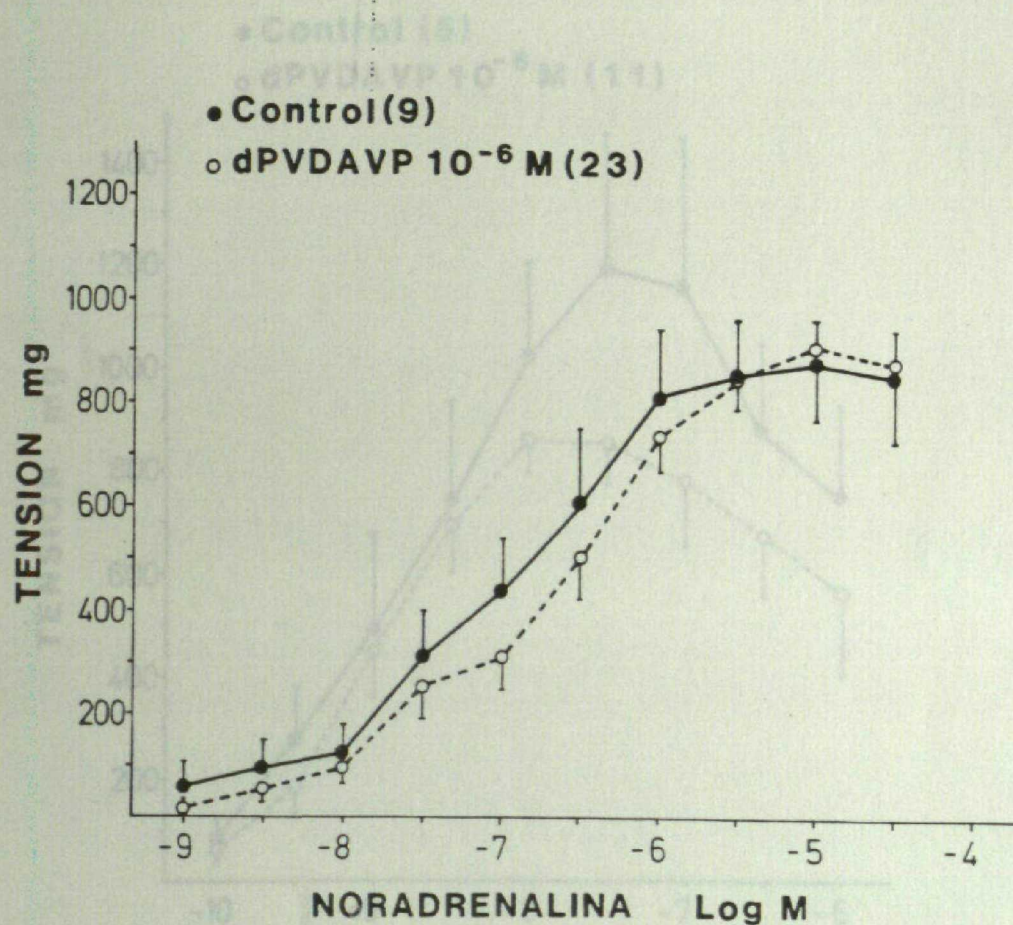


FIGURA 21

Efecto de dPVDAVP (10^{-6} M) sobre la curva dosis-respuesta para la noradrenalina en segmentos de arteria cerebral humana.

producida por el II depende de la concentración.
 La tensión máxima desarrollada es de 1602±94 mg. y
 la CE_{50} es 1.33×10^{-8} M (Tabla II).

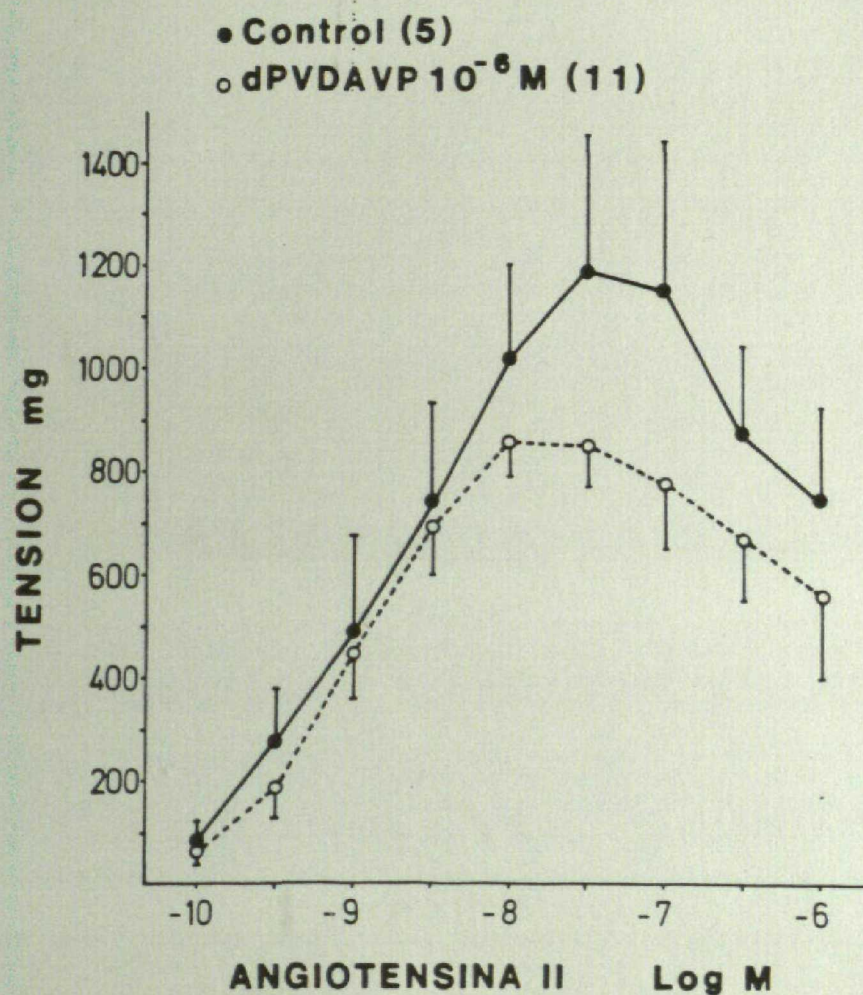


FIGURA 22

Efecto de dPVDAVP (10^{-6} m) sobre la curva dosis-respuesta para la angiotensina II en segmentos de arteria cerebral humana.

producida por el ClK depende de la concentración.
La tensión máxima desarrollada es de 1602 ± 84 mg. y
la CE_{50} es 1.93×10^{-2} M (Tabla II).

DISCUSION

La importancia de los mecanismos neurógenos en la regulación de la circulación cerebral ha quedado establecida mediante estudios *in vivo* e *in vitro*. Por otra parte, se ha evidenciado que diversas sustancias vasoactivas actúan en los vasos cerebrales a través de la unión al subtipo específico de receptores de dopamina. Todo esto sugiere que los vasos cerebrales poseen receptores sensibles a estas sustancias como se encuentra en otros vasos (1961).

DISCUSION

Ampliamente documentado en animales de laboratorio, no ha ocurrido igual en el hombre, ya que los estudios sobre vasos cerebrales humanos son escasos. La utilización de estos vasos sanguíneos humanos plantea mayores dificultades que si se usan los de animales de experimentación. A pesar de esto, los datos sugieren que las dificultades en que se encuentran en estos estudios son similares a las que se encuentran en los estudios de vasos de laboratorio. Sin embargo, se debe tener en cuenta que y a pesar de que los vasos humanos presentan problemas derivados de que los vasos humanos tienen repercusión en el resto del organismo fundamentalmente a la diferencia de la estructura y las múltiples variables individuales (dieta, enfermedad, etc.) que producen falta de homogeneidad en las muestras. Para paliarlo se comenzó por desmenuzar los vasos de animales

La importancia de los mecanismos neurógenos en la regulación de la circulación cerebral ha quedado establecida mediante estudios in vivo e in vitro. Por otra parte, se ha evidenciado que diversas sustancias vasoactivas actúan en los vasos cerebrales a través de la activación de receptores específicos de la pared vascular. Todo esto indica que los vasos cerebrales de diversas especies animales responden a estas sustancias de modo cualitativamente similar a como ocurre en otros lechos vasculares (126).

Pero si bien todos estos datos han sido ampliamente documentados en animales de laboratorio, no ha ocurrido igual en el hombre, ya que los estudios sobre vasos cerebrales humanos son escasos. La utilización de estos vasos sanguíneos humanos conlleva mayores dificultades que si se usan los de animales de experimentación, dificultades en que, por obvias, no vamos a insistir. Sin embargo si haremos hincapié en otros problemas derivados del uso de este material y que tienen repercusión en el método. Nos refirimos fundamentalmente a la dispersión de edades y las múltiples variables individuales (hábitos, dieta, enfermedades, etc.) que producirían falta de homogeneidad en las muestras. Para paliarlo se comenzó por desechar las procedentes de sujetos

portadores de enfermedades con repercusión vascular (vgr., hipertensión arterial, diabetes, accidentes cerebrovasculares, etc.) y se procuró homogenizarlas de modo que las características de los vasos fuesen lo más parecidas posibles (se eligieron arterias de diámetro similar y de territorios determinados).

A todo lo anterior hay que añadir la complicación que supone la variación en el tiempo transcurrido desde el fallecimiento hasta la utilización experimental del material vascular en los distintos casos y que podría suponer otra fuente de error. Respecto a esto, diversos investigadores han obtenido respuestas adecuadas en arterias cerebrales humanas hasta 8 horas después del fallecimiento (213) y también se ha demostrado para arterias digitales humanas una actividad funcional válida entre 6 y 60 horas postmortem (111). Un sistema similar se ha seguido en arterias cerebrales, con resultados comparables (197). En base a lo expuesto consideramos la necesidad de establecer durante qué período de tiempo la respuesta contráctil era adecuada y homologable. Usando como estímulo la noradrenalina hallamos que ésta se mantenía con valores comparables hasta las 72 horas postmortem. Por esta razón se aceptó este margen como el límite para trabajar con unos vasos que, según los datos

obtenidos, mantenían unas características homogéneas.

Así mismo, hemos de considerar las modificaciones que pueden sufrir después de la muerte los neurotransmisores almacenados en las vesículas presinápticas. Así para las catecolaminas, se ha demostrado una alteración de su liberación de las terminaciones nerviosas perivasculares a partir de las 6 horas (151).

POTENCIAS RELATIVAS

De entre los agentes vasoactivos estudiados, la vasopresina es la que mostró tener una potencia y afinidad mayores. Esta es seguida por serotonina, angiotensina II, noradrenalina, tiramina y ClK (Figura 4 y Tabla II). A los péptidos (vasopresina y angiotensina II) corresponde mayor potencia que a las aminas biógenas ensayadas (serotonina, noradrenalina y tiramina) y todas ellas, a su vez, superan al ClK. Esta ordenación tiene algunos rasgos parecidos a los obtenidos en arterias digitales humanas, donde la secuencia es angiotensina II, serotonina, noradrenalina, histamina, Cl₂ Ba y ClK (111). Esta similitud de comportamiento entre arterias cerebrales y digitales humanas en cuanto a la afinidad de los agonistas -y también de su

respuesta contráctil- ya había sido constatada previamente utilizando vasos del mismo individuo (197) y, además, los resultados obtenidos en arterias cerebrales son comparables a los nuestros. Así pues, podemos concluir que la potencia relativa mayor corresponde a los péptidos -y de ellos a la vasopresina- y que la de la serotonina es superior a la de las catecolaminas, siendo la del ClK la menor.

Si analizamos el efecto contráctil máximo la cadencia es diferente. En este caso la actividad mas marcada corresponde también a vasopresina, que es seguida por ClK, tiramina, noradrenalina, serotonina y angiotensina II (Figura 4 y Tabla II). Estos resultados son comparables a los observados en arterias digitales humanas (111). Esta coincidencia entre estos dos territorios vasculares también ha sido descrita por ROSE y MOULDS (1979) (197), quienes no encontraron diferencias significativas entre la respuesta de arterias cerebrales y digitales, salvo en el caso de la noradrenalina.

Un aspecto que queremos resaltar es que el efecto de la serotonina resulta el más duradero, seguido del de la noradrenalina, mientras que éste es más fugaz cuando se utilizan los péptidos. La explicación a este hecho hay que buscarla, probablemente, en el desarrollo de taquifilaxis

para estos péptidos, como ya ha sido señalado por otros investigadores en arterias cerebrales de conejo y cabra (231, 236). Así mismo, hay también constancia de que ésta es menor para la noradrenalina y serotonina que para la angiotensina II, siendo nula para ClK, en arterias digitales humanas (111).

Si comparamos nuestros resultados con otros ensayos sobre arterias cerebrales de animales, observamos que aunque la potencia relativa para el ClK es similar, no ocurre así con la serotonina y noradrenalina, ya que la de ésta, en nuestro caso, es superior a la hallada en perro (228), gato (170) y cabra (236). Esta diferencia respecto de las arterias cerebrales humanas también se hace patente en el caso de los péptidos, encontrando para la angiotensina II ausencia de respuesta en cabra (236) y menor potencia en gato (156). En el caso de la vasopresina, ésta es menos activa en arterias cerebrales de cabra que en las del hombre (144).

Todo lo anteriormente expuesto sugiere que esta capacidad de respuesta vascular varía según la especie y viene a reforzar el interés por estudiar y conocer el comportamiento funcional de las arterias cerebrales humanas.

SISTEMA ADRENERGICO

La inervación simpática de los vasos cerebrales ha quedado establecida por estudios morfológicos (26, 33, 42, 55, 99, 159, 168, 169, 170, 198) y bioquímicos (173, 235). Y existen datos de su efecto vasomotor funcional mediante estímulo y manipulación del simpático cervical (3, 14, 43, 109, 110, 124) y por el uso de sustancias que actúan sobre este sistema (86, 147, 210). Así mismo, se ha demostrado la existencia de receptores noradrenérgicos en este lecho vascular (64, 147, 236).

1. NORADRENALINA

Las arterias cerebrales aisladas del hombre estudiadas por nosotros evocan una respuesta contráctil frente a la noradrenalina, cuyo efecto máximo es inferior al producido por ClK, vasopresina y tiramina; y la potencia es de las menores, seguida sólo por tiramina. Su baja potencia y su limitado efecto máximo relativos son hechos frecuentemente observados en los vasos cerebrales de varias especies (141, 170, 197, 200, 228, 236).

En nuestro caso existe la característica de que la noradrenalina no tuvo el efecto más bajo de todas las aminas biógenas, ya que superaba a la

serotonina y esto no se corresponde con lo observado previamente en arterias cerebrales de animales, donde la actividad contráctil de la noradrenalina era menor que la de la serotonina (228, 236). Sin embargo en arterias periféricas este orden se invierte (204, 228, 229), siendo comparable a nuestros resultados en arterias cerebrales humanas.

La baja potencia de la noradrenalina hallada en este trabajo concuerda con descripciones previas en arterias cerebrales humanas (197, 213). Existen, además, estudios que indican que los vasos cerebrales tienen menos sensibilidad a la noradrenalina que los periféricos (51, 62, 229) sugiriendo que hay un número menor de receptores alfa-adrenérgicos en el lecho vascular cerebral y con unas características distintas a las de los vasos periféricos (229). Sin embargo esta diferencia de sensibilidad no se ha constatado en el hombre, donde se ha encontrado similitud de potencia en arterias cerebrales y digitales (197).

La fentolamina, antagonista de los receptores adrenérgicos alfa, produjo un desplazamiento de la curva dosis-respuesta para la noradrenalina, sin modificación significativa del efecto máximo, con una relación de dosis equipotentes de 129.04 y un PA_2 de 8.1. Este

valor de pA_2 es superior al hallado en arterias cerebrales de cabra (7.23) (236) y al obtenido en membrana nictitante de gato (7.25) (131) y aorta de conejo (7.8) (81).

Hemos de señalar que la fentolamina no produjo interferencia con la curva dosis-respuesta para el ClK, de donde se deduce que no ejerce su efecto a través de los mecanismos intrínsecos de la despolarización de la membrana celular (31) y por ende no produce tampoco bloqueo en los canales del Calcio (103), por otra parte, se ha demostrado que ésta no interfiere en los mecanismos del Calcio en la contracción de la fibra del músculo liso vascular, ya que no modifica la respuesta provocada por Cl_2 Ba (111).

Por lo tanto, la noradrenalina ejerce su efecto contráctil en las arterias cerebrales humanas a través de la activación de receptores del tipo alfa-adrenérgico. Estos ya habían sido demostrados en los vasos cerebrales de diferentes especies animales (64, 147, 236) y también en el hombre (55); siendo su capacidad de respuesta cualitativamente similar a la de otros lechos vasculares (62, 137, 170). Estos receptores han sido tipificados, por otros autores, como subtipo alfa-1 en las arterias cerebrales de hombre y mono (227), mientras que son alfa-2 en gato (215) y perro (227).

En conclusión, nuestros estudios indican que las arterias cerebrales humanas tienen una considerable sensibilidad a la noradrenalina, ejerciendo un efecto vasoconstrictor mediante la activación directa de receptores alfa-adrenérgicos. Esto le confiere a esta amina un papel potencial importante en la regulación de la circulación cerebral en circunstancias normales o patológicas en que aumente la actividad simpática.

2. TIRAMINA Y ESTIMULO ELECTRICO

Al intentar objetivar la acción contráctil con tiramina y estímulo eléctrico de campo tal y como se había demostrado en arterias cerebrales aisladas de cabra (35, 37, 235) y humanas (213) encontramos datos diferentes a los previamente conocidos.

En estudios con animales, la tiramina produce disminución del F.S.C. al inyectarla directamente en este territorio por vía arterial (3, 146) y contracción de los vasos cerebrales aislados (35, 229, 235), que dependen de la integridad de las fibras nerviosas simpáticas (3, 35). Esta respuesta disminuye en presencia de fentolamina (146, 235).

En nuestro caso la tiramina produjo una respuesta dosis dependiente cuyo efecto máximo era

mayor que el de la noradrenalina. Este hecho era concordante con lo hallado en arterias cerebrales de perro (229) y cabra (35, 235). Esta capacidad contráctil en arterias cerebrales humanas había sido referida por SHIBATA y col. (1977) (213). Lo realmente peculiar de nuestro estudio es que la curva dosis-respuesta no fue modificada por la fentolamina. Esto supone una discordancia clara con lo previamente observado en arterias cerebrales de cabra (235) y de hombre (213), en donde la fentolamina bloqueaba parcialmente la respuesta evocada por tiramina, indicando que la acción de esta amina era debida a la liberación de catecolaminas de las terminaciones simpáticas perivasculares. Este mecanismo de acción de la tiramina también ha sido constatado en diversos estudios in vivo e in vitro sobre los mecanismos adrenérgicos en la circulación cerebral (3, 35, 43, 146). En nuestro estudio, al no bloquear la fentolamina la respuesta de la tiramina podemos sugerir que el efecto vasoconstrictor cerebral de ésta no era producido mediante un mecanismo simpático-mimético indirecto, sino que sería debido a la acción directa de la tiramina sobre estos vasos. Este modo de actuar ya había sido referido en arterias cerebrales de cabra (235). Y está en consonancia con lo observado por otros autores (229).

El estímulo eléctrico de los segmentos arteriales se utilizó en base a los datos que conceden al estímulo nervioso simpático una acción vasoconstrictora de tipo adrenérgico (34, 146, 210) y a que su acción contráctil vascular in vitro es debida a la liberación de catecolaminas (35, 37, 137). Sorprendentemente nuestros estudios mostraron que el estímulo eléctrico no produjo ningún tipo de respuesta en la mayoría de los segmentos arteriales. Esto estaba en clara contradicción con lo hallado en nuestro laboratorio en la arteria cerebral de cabra (35, 37). Sin embargo, coincidía, en parte con lo descrito por SHIBATA y col. (1977) (213) en vasos cerebrales procedentes de necropsias y utilizados 8 horas después de la muerte. Estos autores tan sólo obtuvieron una contracción débil en 2 de 8 preparaciones aplicando estímulos de gran intensidad y la respuesta obtenida era bloqueada con fentolamina, en consonancia con una acción simpaticomimética indirecta.

La explicación a esta falta de efecto adrenérgico de la tiramina y estímulo eléctrico hay que buscarla en el hecho de que tras la muerte se va produciendo una pérdida de catecolaminas a nivel presináptico. En apoyo de esta sugerencia está la observación de que en arterias cerebrales humanas

la inervación adrenérgica comienza a desaparecer gradualmente 3-4 horas después del fallecimiento (106) y las terminaciones nerviosas perivasculares ya no son funcionales a partir de las 6 horas después de la muerte (151). Esto también explica el que en aquellos casos, en los que el tiempo postmortem era menor que el de nuestras muestras, si se obtuviera respuesta aunque discreta (213). En base a lo anterior se decidió estudiar arterias cerebrales procedentes de piezas neuroquirúrgicas recientes. En este caso, y para sorpresa nuestra, los resultados fueron idénticos a los obtenidos en arterias procedentes de necropsias. Estos resultados nos llevan a sugerir que existía también una alteración en las terminales simpáticas de estos vasos. Probablemente la electro-coagulación (bisturí eléctrico) empleada en la intervención quirúrgica fue la responsable de este trastorno a nivel presináptico. En este sentido, si se desea analizar la capacidad funcional de las terminaciones simpáticas de los vasos cerebrales es recomendable obtener las muestras antes de haber usado la electrocoagulación tal y como hacen otros autores (25). Esto permite, además, poner de relieve la importante acción que puede ejercer este método quirúrgico en la inervación vascular e insistir en sus posibles repercusiones en la regulación de la circulación cerebral del enfermo

en el postoperatorio.

En conclusión, nuestros resultados sugieren que los mecanismos adrenérgicos han de ser considerados en la regulación de la circulación cerebral del hombre. Es probable que estos mecanismos sean importantes puesto que las arterias cerebrales son sensibles a la noradrenalina y poseen una elevada población de receptores alfa-adrenérgicos.

La importancia de estos hallazgos radica tanto en un mejor conocimiento de la acción del sistema simpático en la fisiología de la circulación cerebral, como en la posibilidad de ahondar en la relevancia que estas catecolaminas tienen en la fisiopatología y patogenia de diversas situaciones que implican a los vasos cerebrales. Así, es clara su acción en la hipertensión arterial aumentando las resistencias vasculares, lo que incluiría al lecho cerebral con las repercusiones que comporte.

En la isquemia cerebral el fallo energético celular provoca la liberación de neurotransmisores, entre ellos catecolaminas y serotonina y ello puede favorecer la progresión de la isquemia por su acción vasoconstrictora (245).

Si planteamos su importancia en la génesis del vasoespasma cerebral tras la hemorragia

subaracnoidea, hay que considerar que la noradrenalina es aquí una sustancia potencialmente activa (7, 8, 250). Sin embargo, el papel del sistema adrenérgico en la génesis de este fenómeno no ha encontrado una explicación satisfactoria, a pesar de haber sido ampliamente investigado tanto en los aspectos etiológicos como terapéuticos (80, 119, 165, 178, 220). No obstante, recientemente se ha demostrado que la interrupción de las vías catecolaminérgicas, que procedentes del tronco-encéfalo proyectan en hipotalamo-hipófisis, previene la aparición del vasoespasma experimental tras la inyección intracisternal de sangre (222).

También en la fisiopatología de la migraña tienen un lugar las catecolaminas, y así han sido incluídas entre las diversas sustancias que concurrirían en ella (128) y, más concretamente, se ha considerado al locus caeruleus como el núcleo donde tendría origen el proceso jaquecoso; su activación causaría vasoconstricción en el córtex cerebral y a partir de aquí tendría lugar la onda de oliguemia que inicia el cuadro (129). La importancia de estos mecanismos adrenérgicos viene contemplada en la práctica por el hecho, ampliamente recogido, de que la ingestión de alimentos que contienen algunos simpáticomiméticos, como la tiramina, son capaces de desencadenar las crisis migrañosas (48, 128).

Por tanto, un mejor conocimiento de la acción de estas catecolaminas sobre los vasos cerebrales va a redundar en un perfeccionamiento de la terapéutica y en una mayor eficacia.

SISTEMA SEROTONINERGICO

Existen datos que evidencian la presencia de terminales nerviosas serotoninérgicas en los vasos cerebrales. Estudios con autorradiografía (40), histofluorescencia (45, 46, 167) inmunofluorescencia (52, 89) y microscopia electrónica (107), así como bioquímicos y farmacológicos (52, 89, 163, 191, 192) demuestran inervación serotoninérgica en los vasos cerebrales de animales de laboratorio. Así mismo, este tipo de inervación ha sido demostrado en arterias cerebrales humanas (88). Estas fibras nerviosas proceden del tronco del encéfalo (52, 192) y probablemente de los núcleos del rafe (40).

Los efectos vasoconstrictores de la serotonina (5-HT) sobre la circulación cerebral han sido puestos de manifiesto por estudios in vivo (6, 145) e in vitro (55, 56, 58, 89, 127, 154, 236) con identificación de receptores específicos, existiendo diferencias de especie para su efecto contráctil y su potencia (56, 58, 127). Además la serotonina también produce acción vasodilatadora,

probablemente mediada por receptores beta-adrenérgicos (56, 57, 58) que se ha relacionado con el tono vascular (96) y con el diámetro de los vasos (en los de más de 200 micras sería vasoconstrictora y en los menores de 70 micras dilatadora) (148).

En los vasos piales se ha mostrado como un vasoconstrictor más potente que noradrenalina (197, 228, 236). En nuestro trabajo hemos observado que las arterias cerebrales humanas se contraen en respuesta a la serotonina. Su efecto máximo es menor que el producido por el ClK - similar a lo descrito en animal de experimentación (56, 58, 127)- pero también menor que el causado por noradrenalina, a diferencia de lo previamente referido en diversos animales (228, 236) y en el hombre (197). Igualmente es inferior a la tiramina y vasopresina, pero superior a la angiotensina II. Su potencia, sin embargo, es superada sólo por la vasopresina y es muy similar a la de la angiotensina II. Esto concuerda con lo ya descrito por otros (197, 228, 236).

No hemos encontrado claras discordancias comparando nuestros datos con lo hallado en arterias digitales humanas (11) y en otros estudios (197), sugiriendo que no existen marcadas diferencias regionales.

Es de destacar el hecho de que la acción

contráctil de la 5-HT es más duradera que la de otras sustancias, lo que supone un efecto máximo sostenido -también observado en cabra (236)-. Esto sugiere que esta amina puede tener un papel importante en el mantenimiento del tono y por ende de la resistencia vascular. Esto podría relacionarse con la importancia que se le ha concedido en la fisiopatología de determinadas situaciones, tales como el vasoespasmo arterial tras la hemorragia subaracnoidea (6, 190, 237) y la migraña (12, 13, 214).

La LSD, antagonista de la serotonina al bloquear los receptores triptaminérgicos (55, 154, 236), no produjo un desplazamiento de la curva control hacia la derecha, sino un aplanamiento del efecto máximo, que parecía guardar relación con la dosis de LSD. Estos resultados son similares a los hallados en arterias cerebrales de cabra (236), gato y hombre (56, 58). No se ha visto diferencia en el comportamiento de la curva dosis-respuesta con el uso de otros antagonistas de la 5-HT como la metisergida (53, 56, 58) o ketanserina (53) y parece tratarse de un bloqueo de tipo no competitivo. Este hecho contrasta con el comportamiento de las arterias extracraneales en las que la metisergida si provoca un desplazamiento

a la derecha de la curva control, produciendo un bloqueo de tipo competitivo (55, 56, 58), lo que sugiere que los receptores serotoninérgicos de las arterias cerebrales tendrían diferente comportamiento al de los vasos extracraneales.

Existe evidencia de que la LSD no modifica la respuesta contráctil causada por ClK (236), de donde se deduce que no altera los mecanismos de despolarización de la fibra muscular (31). Ello nos permite aventurar que tampoco tiene acción bloqueante sobre los canales del Calcio (103), a diferencia de lo que ocurre con otras sustancias antiserotoninérgicas con acción antimigrañosa, como la ciproheptadina (182) o el pizotifeno (183), que sí lo son y que como antagonistas del calcio producen una marcada reducción de la respuesta contráctil evocada por la serotonina en arterias cerebrales humanas (24, 203).

Por lo tanto, la serotonina a bajas concentraciones es capaz de producir constricción en arterias cerebrales humanas a través de la activación de receptores específicos de tipo triptaminérgico y sus efectos son cualitativamente similares a los de otros lechos vasculares.

Entre los receptores de serotonina se ha constatado la existencia de subtipos 5-HT-1 y 5-HT-2 en el sistema nervioso central (184) y en el

tejido vascular encefálico han sido incriminados tanto los 5-HT-1 (23, 185) como los 5-HT-2 (34, 226). Sin embargo hacen falta estudios ulteriores para establecer definitivamente su participación y, probablemente, éstos pueden variar según la especie. No existen datos concluyentes todavía en relación a los vasos cerebrales humanos, ya que no se han hallado diferencias con el uso de distintos antagonistas como metisergida o ketanserina (53).

Respecto a la acción simpáticomimética indirecta de la serotonina, objetivada inicialmente en miocardio (71) y músculo liso no vascular (188) y evidenciada en los vasos cerebrales in vivo (6, 145) e in vitro (56, 58, 152, 153, 155), en nuestro estudio no tuvimos constancia de este mecanismo puesto que la curva dosis-respuesta de serotoninan no se vio afectada por la fentolamina. Ahora bien, el hecho de que tampoco provocásemos este efecto indirecto con tiramina y estímulo eléctrico, así como la evidencia de que existía una alteración de los mecanismos adrenérgicos a nivel presináptico en las arterias procedentes de necropsias con un tiempo postmortem superior a 6 horas (151), no nos permite afirmar que la serotonina no pueda tener acción simpático-mimética en los vasos cerebrales humanos. Efecto que, por otra parte, parece que puede variar según la especie (55, 152).

En conclusión, nuestros estudios indican que las arterias cerebrales humanas tienen una gran sensibilidad a la setononina, que se comporta como un potente vasoconstrictor mediante la activación de receptores triptaminérgicos. Esto le confiere su posible importancia en la regulación de la circulación cerebral en condiciones fisiológicas o patológicas en que esta amina se libere en cantidades que puedan influir sobre el aporte sanguíneo al cerebro.

La importancia de estos hallazgos se extiende a la clínica y no debe resultar extraño el lugar señero que la serotonina ha llegado a ocupar entre las sustancias que actúan sobre la circulación cerebral y el papel destacado que detenta en la fisiopatología y patogenia de las alteraciones cerebrovasculares que se producen en la hemorragia subaracnoidea, la migraña y la isquemia cerebral.

Es un hecho demostrado la importancia de la 5-HT en la génesis del vasoespasmo secundario a hemorragia subaracnoidea (6, 190, 237), aunque puedan estar implicadas otras sustancias ya que ni metisergida ni LSD inhiben la contracción causada por líquido cefalorraquídeo procedente de pacientes con este cuadro (22). Además la concentración de 5-HT en el líquido cefalorraquídeo tras una

hemorragia subaracnoidea no está elevada, por lo que no justifica su influencia en el espasmo prolongado, pero si actuaría en la fase inicial del mismo la 5-HT liberada de las plaquetas (240). Esta acción se produciría por vía humoral, puesto que las vías centrales serotoninérgicas parece ser que no intervienen en la patogenia de este fenómeno (221).

En la migraña también se ha invocado a la serotonina como eje de su patogenia (12, 214), fundamentalmente en la llamada teoría vascular (13), aunque también en la mediada por mecanismos nerviosos (79, 105). No obstante desde la perspectiva de ambas hipótesis, vascular y neural, hay que contemplar la importante presencia de otros neurotransmisores y sustancias vasoactivas para hallar una explicación satisfactoria del proceso (48, 128, 177).

En la isquemia cerebral la liberación de 5-HT aumenta (246) y va a influir junto con otras sustancias en las alteraciones del F.S.C., pudiendo contribuir a la progresión de la misma (245) por su acción vasoconstrictora, que puede ser potenciada por la hipoxia (239).

Por tanto, un mayor conocimiento de los mecanismos serotoninérgicos sobre los vasos cerebrales permitirá profundizar más en la fisiopatología de las alteraciones

cerebrovasculares y sentar unas bases terapéuticas más eficaces.

SISTEMA PEPTIDERGICO

Desde la demostración de fibras tipo P en las vías nerviosas neurosecretoras de la neurohipófisis realizado por BAUMGARTEN y col. (1970) (18), se han venido identificando mediante técnicas de inmunoquímica e inmunocitoquímica diversos péptidos biológicamente activos en las células y fibras nerviosas (104). Actualmente se reconocen más de 30 neuropéptidos (108), que pueden localizarse tanto en el sistema nervioso central como periférico. Existe la duda de si son neurotransmisores o neuromoduladores y serán necesarios más estudios hasta conocer bien sus funciones (172).

Morfológicamente tenemos la primera evidencia de la presencia de estos neuropéptidos en los vasos cerebrales con la identificación, mediante técnicas de inmunofluorescencia del péptido vasoactivo intestinal en los nervios perivasculares, siendo su origen todavía desconocido (66, 132). Posteriormente se han descubierto fibras nerviosas para la sustancia P (233), el neuropéptido Y (232) y el péptido liberador de gastrina (234). Hasta la fecha no hay

datos morfológicos de la presencia de terminales nerviosas relacionadas con angiotensina y vasopresina.

En lo referente a su efecto sobre los vasos cerebrales, sabemos que son constrictores la angiotensina II (36, 47, 59, 197, 211, 231, 242), vasopresina (36, 94, 144, 231, 236), neuropéptido Y (172), bradiquinina, occitocina y somatostatina (94) y dilatadores la sustancia P (61, 172), endorfinas (94), y el péptido intestinal vasoactivo (54).

Receptores específicos en las arterias cerebrales han sido demostrados para la sustancia P (60), endorfinas (94), angiotensina II (36, 156) y vasopresina (36, 144).

1. ANGIOTENSINA II

La angiotensina II es el péptido efector del sistema renina-angiotensina y ejerce una amplia variedad de acciones en los sistemas cardiovascular, renal, endocrino, metabólico y nervioso central y periférico (158). Es conocida su marcada acción vasoconstrictora sistémica, con un efecto evidente sobre las resistencias vasculares, por lo que tiene un destacado papel en la regulación de la presión arterial (11) y ocupa un lugar prominente en la patogenia de la hipertensión arterial (205).

Este octapéptido ejerce una potente acción directa contráctil sobre el músculo vascular y estimula la síntesis de aldosterona en la zona glomerulosa de la cápsula suprarrenal, estos efectos reguladores sobre la presión arterial y volumen plasmático son ejercidos por rutas bien conocidas (158). Receptores de angiotensina II han sido localizados en glándula adrenal, vasos sanguíneos y útero (1, 30, 32, 87). Por otra parte, la angiotensina II es un neuropéptido clasificado como hormona circulante (108) con una amplia representación como neurotransmisor en el sistema nervioso, según lo demuestra la existencia de sus receptores en distintas partes del sistema nervioso central (cerebro, tronco-encefálico, cerebelo y médula) (83, 84). Su presencia en algunas estructuras del mismo podría estar relacionada con la acción de la angiotensina II en la regulación central de la presión arterial (158). Entre otras funciones estimula la ingesta de agua y sal y libera diversas hormonas hipofisiarias, incluida la vasopresina (130). Su efecto sobre los vasos ha sido muy estudiado, habiéndose identificado receptores en diversos lechos vasculares tales como aorta de conejo (17, 140), cobaya (138) y femoral de gato (156), suponiéndolos localizados en la célula endotelial (193).

Mediante el cultivo de células musculares de aorta de rata se ha hallado una alta afinidad de ligandos para angiotensina II (180) y con células aisladas musculares procedentes de arteria mesentérica se ha observado que la fosforilización de las cadenas ligeras de miosina es estimulada por bajas concentraciones de angiotensina II (10), lo que podría representar un importante paso en su mecanismo de acción en la estimulación de la contracción vascular.

Durante mucho tiempo se ha pensado que su acción se limitaba a los vasos periféricos y era así ignorado su efecto directo sobre los vasos cerebrales. Actualmente su conocimiento a este nivel es todavía limitado. En principio no hay datos morfológicos que apoyen la presencia de terminaciones nerviosas angiotensinérgicas en las arterias cerebrales. Sus efectos vasconstrictores en la circulación cerebral fueron inicialmente controvertidos (231, 236). Posteriormente se confirmó su efecto vasoconstrictor cerebral en especies animales in vivo (47, 242) e in vitro (59, 94, 98, 156, 211), y en arterias cerebrales aisladas humanas (197). Esta sustancia ha sido muy utilizada en el estudio de la relación que existe entre la presión arterial y el F.S.C. (16, 47, 122, 149, 171, 219, 242). Sin embargo no existían datos

suficientes respecto a la presencia de receptores específicos en los vasos cerebrales. Este aspecto ha sido investigado en nuestro laboratorio en gato (156) y en hombre (36).

En el presente trabajo la angiotensina II produjo una respuesta contráctil de las arterias cerebrales humanas, siendo su potencia superior a la de las catecolaminas y similar a la de la serotonina, y su efecto máximo menor que el de todas las anteriores y el ClK. Este orden de potencia era, en cierto modo, similar a lo previamente hallado en arterias cerebrales humanas (197), y demuestra que estos vasos son muy sensibles a este neuropéptido. Sin embargo, su efecto contráctil es moderado y además poco mantenido, lo que se puede explicar por la facilidad con que se produce taquifilaxis con la angiotensina II (118), y es semejante a lo obtenido por otros autores en arterias cerebrales aisladas de conejo (231) y en el animal entero (219).

En relación con las diferencias de especie, si comparamos nuestros resultados con los de la arteria cerebral de gato nos encontramos con datos semejantes respecto a su potencia según algunos autores (94) pero diferentes según nuestra experiencia, ya que en el gato la potencia es mayor y el efecto contráctil es ligeramente menor (156). En cuanto a las diferencias de respuesta entre

arteria cerebral y periférica, no parecen demostradas en el hombre, pues estudios realizados en arterias digitales y cerebrales muestran respuestas semejantes (197). Sin embargo, sí se han hallado diferencias al comparar arterias femorales y cerebrales de gato, siendo menor la potencia en la arteria femoral con un efecto contráctil muy superior (156). Estas diferencias en la contracción han sido observadas en varias especies por otros autores (230). Los datos expuestos indican que las arterias cerebrales humanas muestran una afinidad para la angiotensina II comparable a la de otras especies estudiadas, no habiendo claras diferencias regionales en el hombre.

En presencia de saralasina, bloqueante específico de receptores de la angiotensina II (175, 187), se produjo un desplazamiento hacia la derecha de la curva dosis-respuesta control, con una relación de dosis equipotentes de 23.52 y un pA_2 de 7.35. Esto implica que se trata de un bloqueo de tipo competitivo. Estos hechos difieren, en parte, de lo hallado en el gato, donde la saralasina produjo un bloqueo no competitivo (156), mostrándose como un agonista parcial para la arteria cerebral, capacidad ya demostrada en otros territorios (187). No obstante la angiotensina II

produce una vasoconstricción cerebral en el hombre a través de la activación directa de receptores específicos.

En presencia de fentolamina no se produjo modificación respecto de la curva dosis-respuesta control para la angiotensina II, lo que sugiere que este péptido no tiene acción adrenérgica directa ni indirecta sobre estos vasos cerebrales. Esto se contrapone a la idea de que la angiotensina II tendría una acción a través del sistema adrenérgico de la pared vascular (72, 251, 252) y que facilitaría la liberación de noradrenalina en las terminales nerviosas, aunque hay indicios de que no ocurre así en todos los lechos vasculares, especialmente el cerebral (238). No obstante nosotros no podemos afirmar taxativamente que este efecto no esté presente en arterias cerebrales humanas ya que, como se ha visto, existe una alteración en la funcionalidad de la inervación simpática en nuestro material, sin embargo parece demostrado que el efecto de angiotensina II no se afecta por los bloqueantes ganglionares ni antagonistas alfa-adrenérgicos (47, 98). Tampoco cambia su curva dosis-respuesta control la presencia de dPVDAVP, antagonista de la vasopresina (150, 176), lo que implica que la angiotensina II no actúa sobre los receptores de la vasopresina.

La curva dosis-respuesta de ClK en

presencia de saralasina no experimentaba modificaciones significativas respecto de su curva control, en consonancia con lo descrito en otros vasos (230), lo que viene a demostrar que la saralasina no interfiere con los iones K^+ en el mecanismo intrínseco de la despolarización (31) y, por tanto, sugiere que no bloquea los canales del calcio (103). La saralasina tampoco modificó a la curva dosis-respuesta control para la noredralina ni para la vasopresina. Estas observaciones indican que la saralasina bloquea de forma específica los receptores vasculares para la angiotensina II.

En conclusión, podemos afirmar que la angiotensina II ejerce su acción vasoconstrictora sobre las arterias cerebrales humanas mediante la estimulación directa de receptores específicos y dosis muy pequeñas de este neuropéptido producen efectos marcados en el lecho vascular cerebral.

Se ha sugerido la existencia de dos tipos de receptores o de dos componentes de un mismo receptor en vasos sanguíneos de gato, apreciándose mayor sensibilidad en el lecho vascular cerebral (156).

Esta acción de la angiotensina II sobre los vasos cerebrales puede ser de relevancia si consideramos el efecto de la hipertensión arterial

sobre el F.S.C. y el calibre de los vasos piales. Así se ha visto que la administración intracarotídea produce disminución del F.S.C., pero si se hace por vía intravenosa entonces se produce un aumento de la presión arterial pero el F.S.C. no se modifica (47). Por otra parte se sabe que su aplicación local produce constricción de arterias y arteriolas piales e inyectada por vía intravenosa produce hipertensión y contracción de arterias piales mayores (242). Todo esto viene a confirmar la actividad de la angiotensina en todo el árbol circulatorio produciendo aumento de resistencias vasculares y colaborando a mantener el F.S.C. Su acción será de marcada importancia cuando exista hipertensión arterial de origen renovascular en que participa el sistema renina-angiotensina.

2. VASOPRESINA

La vasopresina es conocida fundamentalmente por su acción sobre el túbulo renal (hormona antidiurética), donde juega un papel esencial en la regulación del agua corporal. Así mismo es un neurotransmisor o neuromodulador dentro del cerebro (28, 29). Se trata, pues, de un neuropéptido, considerado como péptido hipofisiario según la clasificación de IVERSEN (1983) (108). Su efecto vasoconstrictor se ha demostrado en varias

regiones vasculares (4, 166), pero estimado de limitada importancia fisiológica, puesto que su efecto vascular sólo se manifiesta con dosis muy superiores a las que inducen la máxima antidiuresis (160). Sin embargo, posteriormente se han ido acumulando una serie de evidencias que sugieren que la vasopresina endógena puede actuar no sólo como hormona antidiurética sino también como sustancia vasopresora (2, 113, 139, 212) y podría jugar un importante papel en la regulación de la presión arterial (11, 38, 194). Ha sido demostrado que bajas concentraciones plasmáticas de vasopresina pueden inducir vasoconstricción regional (162) y su efecto presor estaría presente después de la denervación de los barorreceptores y también en pacientes con insuficiencia autonómica (161).

El efecto vasoconstrictor de este neuropéptido ha sido extensivamente confirmado después de haber desarrollado antagonistas específicos para el mismo sobre los receptores de los vasos (207). Usando estos antagonistas para los receptores vasculares y renales, se ha establecido que si la concentración plasmática de vasopresina es baja actuaría sólo sobre los receptores del túbulo, estimulando los receptores vasculares si ésta se eleva (102). Un hallazgo común en los efectos vasomotores de este péptido es

la heterogeneidad de las respuesta dependiendo de la región arterial, así como de la especie animal (4, 100, 209). Parece demostrado que puede inducir vasoconstricción directa y que este efecto es preponderante en ciertas regiones, lo cual podría influir en la redistribución del flujo sanguíneo (102).

Pero nuestro interés se centra fundamentalmente en el efecto de este neuropéptido sobre los vasos cerebrales, cuyo papel ha sido ignorado frente a su acción a nivel periférico y sólo recientemente ha habido algunas aportaciones en este sentido. Actualmente no disponemos de datos morfológicos ni histoquímicos sobre la presencia de terminales nerviosas peptidérgicas portadoras de vasopresina en los vasos cerebrales, aunque sí se conocen terminaciones nerviosas vasopresinérgicas en varias regiones del cerebro (201, 243). Existen, no obstante, datos sobre sus efectos vasomotores en el lecho vascular cerebral aunque éstos son escasos y recientes, ya que las descripciones iniciales en conejo (231) y cabra (236) mostraban una respuesta contráctil variable. Estudios ulteriores confirman esta acción vasoconstrictora sobre las arterias piales tanto mediante aplicación local in situ en la rata (135), como en arterias aisladas de gato (94). Pero en ningún caso existían datos que permitiesen afirmar

que este efecto de la vasopresina sobre los vasos cerebrales fuera debido a la activación de receptores específicos. Este aspecto ha sido estudiado en nuestro laboratorio en cabra (144) y en hombre (81, 144). Los efectos in vivo muestran resultados contradictorios ya que se había referido un aumento del F.S.C. en rata anestesiada (123), en clara oposición a lo ya descrito en otros territorios vasculares. Recientemente se ha demostrado que la vasopresina produce disminución del F.S.C. en la cabra despierta por acción directa sobre los vasos cerebrales sin repercusión en la frecuencia cardiaca ni en la presión arterial (144).

En el presente trabajo la vasopresina produce contracción de las arterias cerebrales humanas siendo su potencia superior a la de todas las otras sustancias ensayadas (aminas biógenas y angiotensina II) y su efecto máximo supera al de las demás sustancias. Estos resultados indican que las arterias cerebrales humanas son muy sensibles a este neuropéptido y está en consonancia con lo que ya había sido demostrado en otras preparaciones vasculares tanto in vivo (100, 102, 209), como in vitro (4, 176). Las arterias cerebrales humanas son claramente más sensibles que las arterias cerebrales de cabra (144), lo que sugiere que

existen diferencias según la especie, concordando con lo ya señalado para otros territorios (4, 100, 209). Para explicar este fenómeno, se ha apuntado que puede ser debido a una diferente población o sensibilidad de los receptores que han de ser estimulados específicamente por la vasopresina (144) y no puede atribuirse a diferencias estructurales de los vasos.

Los datos expuestos indican que las arterias cerebrales humanas muestran una afinidad mayor para vasopresina que en otras especies estudiadas y, además, es interesante señalar que el efecto contráctil sobre arterias cerebrales era producido por concentraciones muy bajas (a partir de 10^{-12} - 10^{-11} M), comparables a las que se observan en plasma en condiciones fisiológicas (91, 133).

En presenecia de dPVDAVP, antagonista de la vasopresina para su efecto vasconstrictor (150, 176), se producía un desplazamiento hacia la derecha de la curva control, con una relación de dosis equipotentes de 281.44 y un pA_2 de 8.45. Esto implica que se trata de un bloqueo de tipo competitivo y demuestra que la vasopresina produce vasoconstricción cerebral mediante activación directa de receptores vasculares específicos.

En presencia de fentolamina no se produjo modificación respecto de la curva dosis-respuesta control para la vasopresina, sugiriendo que este

péptido no tiene acción directa sobre los receptores alfa-adrenérgicos. Tampoco introdujo cambios en esta curva la presencia de saralasina, lo que implica que la vasopresina no actúa sobre los receptores de angiotensina II.

La curva dosis-respuesta de ClK en presencia de dPVDAVP no experimentaba modificaciones significativas respecto a la curva control, lo que indica que la dPVDAVP no interfiere con los iones K^+ en el mecanismo intrínseco de la despolarización celular (31) y, por tanto, sugiere que no bloquea los canales del calcio (103). La dPVDAVP tampoco modificó la curva dosis-respuesta control para la noradrenalina ni para la angiotensina II, en consonancia con lo descrito previamente con otras preparaciones (150, 176). Estas observaciones indican que la dPVDAVP bloquea de forma específica los receptores vasculares para la vasopresina.

En conclusión, la vasopresina es un potente vasoconstrictor de las arterias cerebrales humanas mediante la estimulación directa de receptores específicos y dosis muy pequeñas de este neuropéptido producen ya efectos marcados en el lecho vascular cerebral. Consecuentemente esta capacidad de la vasopresina deberá ser tomada en consideración con respecto a la circulación

cerebral en aquellas circunstancias en que la liberación de este péptido esté aumentada. Y considerar a la vasopresina como una sustancia de posible importancia en la regulación de la circulación cerebral. En este sentido, es de destacar el hecho de que la vasopresina está presente también en el líquido cefalorraquídeo normal. Esta vasopresina licuoral no procedería del plasma (112, 143) pues la barrera sangre-líquido cefalorraquídeo parece ser impermeable para ella (92, 142, 143, 241); se ha planteado que el líquido cefalorraquídeo podría ser el sistema de transporte desde la neurohipófisis a varias partes del cerebro (195). Además han sido halladas vías neurosecretoras que liberarían vasopresina directamente en el sistema ventricular cerebral (27, 29). Tal vez ésta pudiera corresponderse con la sustancia vasoespástica que se ha sugerido que sería liberada por hipótalo-hipófisis en los casos de hemorragia subaracnoidea experimental (222).

La cuestión que nos planteamos es si este péptido es liberado en cantidades suficientes en circunstancias normales o patológicas para afectar el F.S.C.. Durante la hemorragia experimental se ha demostrado que la concentración de vasopresina en plasma es superior a la necesaria para producir un efecto antidiurético máximo (133). Así mismo este hecho ha sido observado durante la cirugía

menor y el stress (50, 194, 224) y durante la hipertensión arterial (39, 160, 174). Estos incrementos de vasopresina teóricamente podrían afectar la circulación cerebral de estos pacientes puesto que concentraciones equivalentes producen notable vasoconstricción cerebral.

En el 25% de los pacientes con hemorragia subaracnoidea se produce incremento de su concentración en plasma y/o en el líquido cefalorraquídeo, habiéndose pensado que este factor contribuiría al empeoramiento de las alteraciones cerebrovasculares de estos enfermos (157). Este fenómeno también se ha observado en otros procesos neurológicos, tales como la meningitis bacteriana (82), ictus (114) e hipertensión intracraneal benigna (218). La hipertensión intracraneal experimental provocada de forma aguda en gato, produce elevación rápida de la concentración de vasopresina en el plasma (189). En relación con todos estos procesos encefálicos, parece ser que la hipertensión intracraneal jugaría un papel destacado en la elevación de las concentraciones de este péptido en plasma y líquido cefalorraquídeo, sin que se conozca todavía la importancia clínica de este fenómeno (217). Es probable que el incremento de secreción de vasopresina en estas circunstancias sea uno de los factores responsables

de las alteraciones de la hemodinámica cerebral que frecuentemente acompañan al aumento de la presión intracraneal.

Nuestros resultados sugieren que la angiotensina II y vasopresina han de ser consideradas en la regulación de la circulación cerebral en el hombre. Es probable que éstas sean importantes ya que las arterias cerebrales son muy sensibles a la vasopresina y angiotensina II y parecen poseer una elevada concentración de receptores específicos para ambos neuropéptidos. La importancia de estos hallazgos radica tanto en un mejor conocimiento sobre la fisiología de la circulación cerebral como en la posibilidad de profundizar en la fisiopatología y patogenia de diversas situaciones en que participan los vasos cerebrales.

VALORACION Y REFLEXIONES SOBRE LOS

RESULTADOS OBTENIDOS

Llegado a este punto, nos encontramos con que hemos demostrado marcados efectos constrictores en arterias cerebrales humanas con diversos estímulos: adrenérgicos, serotoninérgicos y peptidérgicos y esta acción es realizada a través de la activación de receptores específicos. Pensamos que ello refuerza la importancia de los mecanismos aminérgicos y peptidérgicos en la regulación de la circulación cerebral, que de hecho es cualitativamente similar a la de otros lechos vasculares. Esto enriquece el conocimiento de la fisiología y farmacología de esta circulación en el hombre y permite aproximarnos con paso más firme, pero aún titubeante, a la interpretación de las alteraciones cerebrovasculares que se producen en ciertas enfermedades, tales como la migraña, isquemia cerebral, hemorragias encefálicas (parenquimatosa y subaracnoidea) e hipertensión intracraneal. Pero indudablemente faltan muchos datos para completar estos rompecabezas y son muchas otras sustancias las que probablemente estén implicadas en todos estos procesos. Más concretamente, en la situación vasoespástica hemos visto dos fenómenos paradigmáticos, la migraña y el vasoespasmo cerebral tras la hemorragia

subaracnoidea. En ambos la acción de sustancias vasoactivas es conocida, pero no se puede responsabilizar a ninguna de forma exclusiva, ya que se ha ido demostrando que son variadas y diversas las que participan tanto en la migraña (48, 128, 177) como en la hemorragia subaracnoidea (2, 44, 115), interviniendo por vía sanguínea, licuoral y nerviosa. Esto, que también se desprende de los resultados de nuestro trabajo, vendría a explicar el fracaso terapéutico en estos procesos derivado del uso de algunos antagonistas, hecho demostrado experimentalmente en el vasoespasma cerebral (21).

En cualquier caso, habremos de aceptar que a pesar del valor de los estudios in vitro, siempre suponen una simplificación que no representa completamente la situación in vivo (247).

Es probable que, a partir de aquí, para vencer las situaciones de vasoconstricción cerebral parezca más lógico intentar en general, interferir en el efector común de todos estos estímulos, es decir, en los mecanismos intrínsecos de la contracción de la célula muscular lisa de la pared vascular. Así, se ha demostrado que el bloqueo de los canales del calcio inhibe la respuesta contráctil de los vasos cerebrales (24, 181, 203, 249) y la experiencia clínica ha dado resultados

favorables con el uso de estos fármacos en la migraña (9, 49, 85) y también, aunque controvertidos, en la hemorragia subaracnoidea (5, 15, 115, 244). Pero hay que considerar que en estos efectos terapéuticos también influye su capacidad de acción sobre las células nerviosas. No obstante, su eficacia solo relativa en el vasoespismo cerebral se ha explicado en base a que parte de la contracción es debida a la movilización del Ca^{++} intracelular, que es causada fundamentalmente por algunas sustancias presentes en el líquido cefalorraquídeo como tromboxano A_2 y prostaglandina 2α (206). Quizás una hipótesis atractiva en la prevención de este vasoespismo consista en interferir la activación por la calmodulina del complejo actina-miosina (186).

Así pues, nosotros hemos podido comprobar "in vitro" parte del comportamiento de las arterias cerebrales humanas, lo que nos ayuda a comprender algunos aspectos fisiopatológicos de la circulación cerebral. Sin embargo, no creemos haber encontrado muchas respuestas, más bien se nos han abierto nuevos interrogantes. Esperamos que sean fuente de futuras investigaciones.

La circulación cerebral es regulada por mecanismos humores y nerviosos. Estos últimos han ganado relevancia al ser reconocidos como reguladores vasculares. La identificación de receptores específicos con actividad "in vivo" e "in vitro", donde se relaciona con vasos cerebrales humanos.

En este trabajo se han estudiado la capacidad de respuesta de las arterias de diferentes tipos de estimulos vasoactivos.

RESUMEN Y CONCLUSIONES

Se han estudiado las respuestas de las arterias de diferentes tipos de estimulos vasoactivos en preparaciones de arterias de diferentes tipos de estimulos vasoactivos.

En esta preparación experimental se han estudiado las respuestas de las arterias de diferentes tipos de estimulos vasoactivos.

Los RESULTADOS obtenidos fueron los siguientes:

1. Todas las sustancias estudiadas produjeron un aumento de la presión arterial y la magnitud de la respuesta dependió de la dosis aplicada. La respuesta de las arterias de diferentes tipos de estimulos vasoactivos.

La circulación cerebral es regulada por mecanismos humorales y neurógenos. Estos últimos han ganado relevancia con la evidencia de inervación vascular, respuesta a estímulos nerviosos y neurotransmisores e identificación de receptores específicos con estudios "in vivo" e "in vitro", siendo escasos los realizados con vasos cerebrales humanos.

En este trabajo hemos estudiado la capacidad de respuesta de las arterias cerebrales humanas a diversos tipos de estímulos vasoactivos. Para ello hemos utilizado arterias piales procedentes de necropsias y de intervenciones neuroquirúrgicas y preparado segmentos cilíndricos vasculares de 4 mm. de longitud para el registro de la contracción isométrica en un baño de órganos aislados.

En esta preparación experimental obtuvimos las curvas dosis -o estímulo- respuesta para la noradrenalina, tiramina, estímulo eléctrico de campo, serotonina, angiotensina II, vasopresina y cloruro potásico.

Los RESULTADOS obtenidos fueron los siguientes:

1. Todas las sustancias estudiadas produjeron marcada vasoconstricción cerebral y la magnitud de la respuesta dependía de la dosis aplicada. La capacidad de respuesta vascular a la noradrenalina

esta preservada durante al menos 72 horas después del fallecimiento.

2. El estímulo eléctrico de campo no produjo respuestas valorables en ninguna de las preparaciones vasculares procedentes tanto de necropsias como de intervenciones neuroquirúrgicas. Esto sugiere que tanto el fallecimiento como el uso del bisturí eléctrico producen alteración funcional de la inervación perivascular.

3. El orden de potencia de las diferentes sustancias de mayor a menor fue: vasopresina, serotonina, angiotensina II, noradrenalina, tiramina y potasio.

La actividad intrínseca de mayor a menor fue: vasopresina, potasio, tiramina, noradrenalina, serotonina y angiotensina II.

4. Las arterias cerebrales humanas son muy sensibles a las sustancias analizadas, especialmente a la vasopresina, y la vasoconstricción producida por la noradrenalina, serotonina, angiotensina II y vasopresina esta mediada por la activación de receptores vasculares específicos.

La contracción producida por la tiramina es debida, probablemente, a su acción directa sobre las arterias cerebrales y no está mediada por la liberación de noradrenalina de las terminaciones

simpáticas perivasculares.

Estos resultados nos permiten llegar a las siguientes

CONCLUSIONES

1. Las arterias cerebrales humanas son muy sensibles a los estímulos peptidérgicos (vasopresina y angiotensina II) y aminérgicos (noradrenalina, serotonina y tiramina). Así mismo, estas arterias tienen una población relativamente alta de receptores específicos para la vasopresina y angiotensina II y de receptores alfa-adrenérgicos y triptaminérgicos.

2. El tiempo prolongado tras el fallecimiento (más de 6-12 horas) así como el uso de sistemas de electro-coagulación (bisturí eléctrico) probablemente alteran la capacidad funcional de las terminaciones nerviosas perivasculares como sugieren los estudios realizados con la estimulación eléctrica y tiramina. Este fenómeno debe ser tenido en cuenta en las intervenciones neuroquirúrgicas que utilicen la electro-coagulación por su posible repercusión en la capacidad funcional cerebrovascular de los pacientes en el período postoperatorio.

3. Si la capacidad funcional de las arterias cerebrales observada in vitro esta presente in

vivo, los mecanismos aminérgicos y peptidérgicos pueden desempeñar un papel importante en la regulación de la circulación cerebral, especialmente en las situaciones (fisiológicas o patológicas) en que tenga lugar un aumento de la liberación de aminas o péptidos.

Así mismo, nuestros hallazgos pueden contribuir a conocer mejor la fisiopatología de las alteraciones cerebrovasculares que se producen en ciertas enfermedades y con ello a aplicar a los pacientes tratamientos más racionales y eficaces.

Hoy parece mucho el camino andado desde
que se iniciaron los estudios sobre la circulación
cerebral, pero queda aun muy lejos el que falta por

A MODO DE EPILOGO

... "caminante, no hay camino
se hace camino al andar"...

debemos, pues, seguir en esa actitud y encontrar
nuevas rutas que amplíen los horizontes en este
campo, siendo "autómatas" como
diría Claude Bernard.

Hoy parece mucho el camino andado desde que se iniciaron los estudios sobre la circulación cerebral, pero puede ser aún mayor el que falta por recorrer. Más, como dijo el poeta:

... "caminante, no hay camino
se hace camino al andar" ...;

debemos, pues, seguir en esa actitud y encontrar nuevas rutas que amplíen los horizontes en este campo, siendo "audaces en la investigación" como diría Claude Bernard.

1. AGUTTERA G.; MCHIRAN A.; CATT M.J.: Angiotensin II receptors: properties and regulation in adrenal glomerular cells. *Circ. Res.* 48:119-127, 1983.

2. ALEXANDER G.; BERL Y.: Role of vasopressin in the control of systemic hemodynamics - lessons learned from the Brattleboro rat. *Ann. N.Y. Acad. Sci.* 384:293-307, 1982.

3. ALBORN E.; COMEL G.; CIBONIS G.; MARTI J.; ALLEN S.: Cerebral blood flow and vascular reactivity after removal of the superior cervical sympathetic ganglion in the goat. *Circ. Res.* 41:276-283, 1977.

BIBLIOGRAFIA

4. ALLEN S.: Growth and development of the smooth muscle and neurohypophyseal hormones. *Fed. Proc.* 36:1853-1860, 1977.

5. ALLEN S.S.; ALLEN H.G.; PRESTON T.J.; SATY S. et al.: Cerebral arterial spasm - a controlled trial of nifedipine in patients with subarachnoid hemorrhage. *N. Eng. J. Med.* 307:519-524, 1983.

6. ALLEN S.S.; CHOW S.H.; CHOW S.H.; FRENCH L.A.: Cerebral arterial spasm. Part I: In vitro reactivity and production of spasm by endothelin and histamine and its reversal by phentolamine. *J. Neurosurg.* 47:423-428, 1976.

7. ALLEN S.S.; CHOW S.H.: Cerebral arterial spasm. Part II: In vitro effects of alpha-adrenergic agents on canine arteries from six anatomical sites and six blocking agents on verapamil-induced contractions of the canine basilar artery. *Surg. Neurol.* 8:67-76, 1977.

8. ALLEN S.S.; FRENCH L.A.; CHOW S.H.; FRENCH L.A.: Cerebral arterial spasm. Part I: In vitro contraction of vasoconstrictor agents on canine basilar and middle cerebral arteries. *J. Neurosurg.* 42:435-441, 1974.

1. AGUILERA G.; SCHIRAR A.; CATT K.J.: Angiotensin II receptors: properties and regulation in adrenal glomerulosa cells. *Circ.Res.* 46:118-127, 1980.
2. AISENBREY G.; BERL T.: Role of vasopressin in the control of systemic hemodynamics - lessons learned from the Brattleboro rat. *Ann. N.Y. Acad. Sci.* 394:299-307, 1982.
3. ALBORCH E.; GOMEZ B.; DIEGUEZ G.; MARIN J.; LLUCH S.: Cerebral blood flow and vascular reactivity after removal of the superior cervical sympathetic ganglion in the goat. *Circ. Res.*, 41:278-282, 1977.
4. ALTURA B.M.; ALTURA B.T.: Vascular smooth muscle and neurohypophyseal hormones. *Fed. Proc.* 36:1853-1860, 1977.
5. ALLEN G.S.; AHN H.S.; PREZIOSI T.J.; BATYE R. et al.: Cerebral arterial spasm- A controlled trial of nimodipine in patients with subarachnoid haemorrhage. *N.Eng.J.Med.* 308:619-624, 1983.
6. ALLEN G.S.; GOLD L.H.A.; CHOV S.N.; FRENCH L.A.: Cerebral arterial spasm. Part. 3: In vivo intracisternal production of spasm by serotonin and blood and its reversal by phenoxybenzamine. *J.Neurosurg.* 40:451-458, 1974,a.
7. ALLEN G.S.; GROSS C.J.: Cerebral arterial spasm. Part I. In vitro effects of alpha adrenergic agents on canine arteries from six anatomical sites and six blocking agents on serotonin-induced contractions of the canine basilar artery. *Surg. Neurol.* 6:63-70, 1976.
8. ALLEN G.S.; HENDERSON L.M.; CHOV S.N.; FRENCH L.A.: Cerebral arterial spasm. Part I: In vitro contraction of vasoactive agents on canine basilar and middle cerebral arteries. *J.Neurosurg.* 40:433-441, 1974.

9. AMERY W.K.; CAERS L.L.; AERTS T.J.: Flunarizine a calcium entry blocker in migraine prophylaxis. Headache 25:249-254, 1985.
10. ANDERSON J.M.; GIMBRONE M.A.; ALEXANDER R.W.: Angiotensin II stimulates phosphorylation of the myosin light chain in cultured vascular smooth muscle cells. J.Biol.Chem. 256: 4693-4696, 1981.
11. ANDREWS C.E.; BRENNER B.M.: Relative contributions of arginine vasopressin and angiotensin II to maintenance of systemic arterial pressure in the anesthetized water-deprived rat. Circ.Res. 48:254-258, 1981.
12. ANTHONY M.; HINTERBERG H.; LANCE J.W.: Plasma serotonin in migraine and stress. Arch.Neurol. 16:544-552, 1967.
13. ANTHONY M.; LANCE J.W.: The role of serotonin in migraine. En:"Modern topics in Migraine" J.Pearce (Ed.) William Heinemann. Medical Books. London, 107-128, 1975.
14. AUER L.M.; EDVINSSON L.; JOHANSSON B.: Effect of sympathetic nerve stimulation and adrenoceptor blockade on pial arterial and venous calibre and on intracranial pressure in the cat. Acta Physiol.Scand. 119:213-217, 1983.
15. AUER L.M.; ITO E.; SUZUKI A.; OHTA H.: Prevention of symptomatic vasospasm by topically applied nimodipine. Acta Neurochirurgica 63: 292-302, 1982.
16. BARRY D.I.; STRADGAARD S.; GRAHAM D.I.; SVENDSEN V.G.; BRAENDSTRUP O.; PAULSON O.B.: Cerebral blood flow response to intravenous dihydralazine in renal and spontaneously hypertensive rats. Stroke 15: 102-108, 1984.
17. BAUDOUIN M.; MEYER P.; WORCEL M.: Specific binding of ³H-angiotensin II in rabbit aorta. Biochem.Biophys.Res. Commun 42: 434-440, 1971.

18. BAUMGARTEN H.G.; HOLSTEIN A.F.; OWMAN C.: Auerbach's plexus of mammals and man. Electron microscopic identification of three different types of neuronal processes in myenteric ganglia of the large intestine from rhesus monkeys, guinea-pigs and man. *Z.Zellforsch.*, 106:376-397, 1970.
19. BAYLISS W.M.: On the local receptions of the arterial wall to changes of internal pressure. *J.Physiol.(London)* 28: 220-231, 1902.
20. BERNE R.M.; WINN H.R.; RUBIO R.: The local regulation of cerebral blood flow. *Progress in Cardiovascular Diseases*, 3: 243-260, 1981.
21. BOULLIN D.J.; BRANDT L.; LJUNGGREN B.; TAGARI P.: Vasoconstrictor activity in cerebrospinal fluid from patients subjected to early surgery for ruptured intracranial aneurisms. *J.Neurosurg.* 55: 237-245, 1981.
22. BOULLIN D.J., MOHAN J., GRAHAME-SMITH D.G.: Evidence for the presence of a vasoactive substance (possibly involved in the aetiology of cerebral arterial spasm) in cerebrospinal fluid from patients with subarachnoid haemorrhage. *J.Neurol. Neurosurg. and Psychiatry* 39: 756-766, 1976.
23. BRADLEY P.B.; HUMPHREY P.P.A.; WILLIAMS R.H.: Evidence for the existence of 5-hydroxytryptamine receptors, which are not of the 5-HT₂ Type, mediating contraction of rabbit isolated basilar artery. *Br.J.Pharmac.* 87: 3-4, 1986.
24. BRANDT L.; ANDERSON K.E.; EDVINSSON L., LJUNGGREN B.: Effects of extracellular calcium and of calcium antagonists on the contractile responses of isolated human pial and mesenteric arteries. *J.Cereb.Blood Flow Metabol.*, 1: 339-347, 1981.
25. BRAND L.; LJUNGGREN B.; ANDERSON H.E.; HINDFELT B.: Individual variations in response of human cerebral arterioles to vasoactive substances, human plasma and CSF from patients with aneurysmal S.A.H.. *J.Neurosurg.* 55: 431-437, 1981.

26. BRIGGS L.; GARCIA J.H.; CONGER K.A.; PINTO DE MORALES H.; GEER J.C.; HOLLANDER W.: Innervation of brain intraparenchymal vessels in subhuman primates: Ultrastructural observations. *Stroke* 16: 297-301, 1985.
27. BROWNFIELD M.S.; KOZLOWSKI G.P.: The hypothalamo-choroidal tract. I. Immunohistochemical demonstration of neurophysin pathways to telencephalic choroid plexuses and cerebrospinal fluid. *Cell.Tissue Res.* 178: 111-127, 1977.
28. BUIJS R.M.: Immunocytochemical demonstration of vasopressin and oxytocin in the rat brain by light and electron microscopy. *J.Histochem.Cytochem.* 28: 357-360, 1980.
29. BUIJS R.M.; SWAAB D.F.; DOGREROM J.; VAN LEEUWEN F.W.: Intra- and extrahypothalamic vasopressin and oxytocin pathways in the rat. *Cell.Tissue.Res.* 186: 423-433, 1978.
30. CAPPONI A.M.; AGUILERA G.; FAKUNDING G.L.; CATT K.J.: Angiotensin II: receptors and mechanisms of action. En: "Biochemical Regulation of Blood Pressure". Soffer R. (Ed.) John Wiley and Sons. New York: 205-262, 1981.
31. CASTELL R.; KURIYAMA H.: Membrane potential and ion content in the smooth muscle of the guinea-pig *Taenia coli* at different external potassium concentrations. *J.Physiol.* 184: 120-130, 1966.
32. CATT K.J.; MENDELSON FAO; MILLAN M.A.; AGUILERA G.: The role of angiotensin II receptors in vascular regulation. *J.Cardiovasc.Pharmacol.* 6: S575-S586, 1984.
33. CERVOS-NAVARRO J.; MATAKAS F.: Electron microscopic evidence for innervation of intracerebral arterioles in the cat. *Neurology* 24: 282-286, 1984.
34. COHEN M.J.; MASON N.; WILEY K.S.; FULLER R.W.: Further evidence that vascular serotonin receptors are of the 5-HT₂ Type. *Biochem.Pharmacol.* 32: 567-570, 1983.

35. CONDE M.V.: Tesis Doctoral. Facultad de Farmacia. Universidad Complutense. Madrid, 1979.
36. CONDE M.V.; GÓMEZ B.; LLUCH S.: Contractile response of isolated human middle cerebral artery to vasoactive agents. *J.Cerebral Blood Flow and Metabolism* 1 (suppl 1):350-351, 1981.
37. CONDE M.V.; MARIN J.; SALAICES M.; MARCO E.J.; GÓMEZ B.; LLUCH S.: Adrenergic vasoconstriction of the goat middle cerebral artery. *Am.J.Physiol.* 233: H131-H135, 1978.
38. COWLEY A.W.; MONOS E.; GUYTON A.C.: Interaction of vasopressin and the baroreceptor reflex system in the regulation of arterial blood pressure in the dog. *Circ.Res.*34: 505-514, 1974.
39. CROFTON J.T.; SHARE L.; SHADE R.E.; ALLEN C.; TARNOWSKY D.: Vasopressin in the rat with spontaneous hypertension. *Am.J. Physiol.* 235: H361-H366, 1978.
40. CHAN-PALAY V.: Serotonin axons in the supra and in the subependymal plexuses and in the leptomeninges, their roles in local alterations of cerebrospinal fluid and vasomotor activity. *Brain Res.* 102: 103-130, 1976.
41. CHOROBSKI J., PENFIELD W.: Cerebral vasodilator nerves and their pathway from the medulla oblongata. *Arch.Neurol. Psychiatry.* 28: 1257-1289, 1932.
42. DAHL E.: The innervation of the cerebral arteries. *J.Anat.* 115: 53-63, 1973.
43. D'ALECY L.C.: Sympathetic cerebral vasoconstriction blocked by adrenergic alpha-receptor antagonists. *Stroke* 4:30-37, 1973.
44. DENN M.J.; STONE H.L.: Cholinergic innervation of monkey cerebral vessels. *Brain Res.* 113: 394-399, 1976.
45. DI CARLO V.: Histochemical evidence for a serotonergic innervation of the microcirculation in the brain stem. En: "Neurogenic Control of the Brain Circulation". C.Owman and L. Edvinsson (Eds.). Pergamon Press. Oxford: 55-58, 1977.

46. DI CARLO V.: Serotoninergetic innervation of extrinsec brain-stem blood vessels. *Neurology*, 31: 104, 1981.
47. DIEGUEZ G.; HERNENDEZ J.; GOMEZ B.; LLUCH S.: Cerebral blood flow during hypertension induced by norepinephrine, epinephrine and angiotensine II: En: "Circulation Cerebrale". A.Bes y G.Geraud (Eds.)Toulouse: 39-41, 1979.
48. DIEZ TEJEDOR E.; BESCANS E.: Cefaleas. *Medicine*, 61: 2526-2542, 1986.
49. DIEZ TEJEDOR E.; BESCANS E.; FRANK A.; VIÑALS M.; BARREIRO P.; ANCIONES B.: Tratamiento profiláctico de la migraña con nicardipina. (Abstract). *Neurología (Esp.)*(Supl.1):20, 1986.
50. DRUMMOND W.H.; RUDOLPH A.M.; KEIL L.C.; GLUCKMAN P.D.; MAC DONALD A.A.; HEYMANN M.A.: Arginine vasopressin and prolactin after haemorrhage in the fetal lamb. *Am.J.Physiol.* 238: E214-E219, 1980.
51. DUCKLES S.P.; BEVAN J.A.: Pharmacological characterization of adrenergic receptors of a rabbit cerebral artery "in vitro". *J.Pharm.Exp.Ther.* 197: 371-378, 1976.
52. EDVINSSON L.; DEGUERCE A.; DUVERGER D.; MAC KENZIE E.T.; SCATTON B.: Central serotoninergetic nerve project to the pial vessels of the brain. *Nature* 306: 55-57, 1983.
53. EDVINSSON L.; DEGUERCE A.; DUVERGER D.; MAC KENZIE E.T.; SCATTON B.; UDDMAN R.: Coupling between cerebral blood flow and metabolism: A role for serotonin? En: "Neurotransmitter and the cerebral circulation" Mac Kenzie E.T. et al. (Eds.) L.E.R.S. Raven Press. New York: 121-136, 1984.
54. EDVINSSON L.; FAHRENKRUG J.; HANKO J.; Mc CULLOCH J.; OWMAN C.; UDDMAN R.: Vasoactive intestinal polypeptide: Distribution and effects on cerebral blood flow and metabolism. En: "Cerebral Microcirculation and Metabolism". Cervós Navarro and Fritschka E. (eds.). Raven Press. New York: 147-155, 1981.

55. EDVINSSON L.; HARDEBO J.E.: Characterization of serotonin receptors in intracranial and extracranial vessels. *Acta Physiol.Scand.* 97: 523-525, 1976.
56. EDVINSSON L.; HARDEBO J.E.: Receptors for 5-hydroxytryptamine in intracranial and extracranial arteries of cat and man. En: "Current Concepts in Migraine Research". Green E. (Ed.). Raven Press. New York: 141-147, 1978.
57. EDVINSSON L.; HARDEBO J.E.; MACKENZIE E.T.; STEWART M.: Dual action of serotonin on pial arterioles in situ and the effect of propranolol on the response. *Blood Vessels.* 14:366-371, 1977.
58. EDVINSSON L.; HARDEBO J.E.; OWMAN C.: Pharmacological analysis of 5-hydroxytryptamine receptors in isolated intracranial and extracranial vessels of cat and man. *Circ. Res.* 42: 143-151, 1978 b.
59. EDVINSSON L., HARDEBO J.E.; OWMAN C.H.: Effects of angiotensin II on cerebral blood vessels. *Acta Physiol.Scand.* 105: 381, 1979.
60. EDVINSSON L.; Mc CULLOCH J.; ROSELL S.; UDDMAN R.: Antagonism by (n-Pro².n-Trp¹⁰) substance P of the cerebrovascular dilatation induced by substance P. *Acta Physiol.Scand.* 116: 411-416, 1982.
61. EDVINSSON L.; Mc CULLOCH J.; UDDMAN R.: Substance P: Immunohistochemical localization and effects upon cat pial arteries in vitro and in situ. *J.Physiol.(Lond.)* 318:251-258, 1981.
62. EDVINSSON L.; NIELSEN K.C.; OWMAN C.: Influence of initial tension and changes in sensitivity during amine-induced contractions of pial arteries in vitro. *Arch. Int.Pharmacodyn.-Ther.* 208: 235-242, 1974.
63. EDVINSSON L.; NIELSEN K.C.; OWMAN C.; SPORRONG B.: Cholinergic mechanisms in pial vessels. *Histochemistry electron microscopy and pharmacology. Z.Zeliforch. Mikroskop.Anat.* 134: 311-325, 1972.

64. EDVINSSON L.; OWMAN C.: Pharmacological characterization of adrenergic alpha and beta receptors mediating the vasomotor responses of cerebral arteries in vitro. *Circ.Res.* 35: 835-849, 1974.
65. EDVINSSON L.; OWMAN C.: A pharmacological comparison of histamine receptors in isolated extracranial and intracranial arteries in vitro. *Neurology (Mineap.)*, 25: 271-276, 1975.
66. EDVINSSON L.; OWMAN C.: Neurovascular aminergic and peptidergic functions in brain and the possible pathophysiological role in cerebral vasospasm. *Advances in Neurology*, 25: 23-38, 1979.
67. EDVINSSON L.; OWMAN C.; SJÖBERG N.: Autonomic nerves, mast cells and amine receptors in human brain vessels. A histochemical and pharmacological study. *Brain Res.* 115:377-393, 1976.
68. EKSTRÖM-JODAL B.; HÄGGENDAL E.; LINDER L.E.; NILSSON N.J.: Cerebral blood-flow autoregulation at high arterial pressures and different levels of carbon dioxide tension. *Europ.Neurol.* 6: 6-10, 1971.
69. EKSTRÖM-JODAL B.; HÄGGENDAL E.; NILSSON N.J.; NOR BÄCH B.: Changes of the transmural pressure. The probable stimulus to cerebral blood flow autoregulation. En: "Cerebral Blood Flow" Brock M.; Fiesche Inguar D.H. et al. (Eds.) Springer, Heidelberg: 89, 1969.
70. ESTRADA C.; LLUCH S.: Farmacología de la circulación cerebral. En: "Perspectivas terapéuticas con su fundamento farmacológico. Sistema Nervio Central". Esplugues I. (Ed.) 2ª Edición. Fundación García Muñoz. Valencia: 5-19, 1981.
71. FILLION G.M.; LLUCH S.; UVNÄS B.: Release of noradrenaline from the dog heart in situ after intravenous and intracoronary administration of 5-hydroxytryptamine. *Acta Physiol. Scand.* 83: 115-123, 1971.

72. FINK G.D.; BRYAN W.J.; MOKLER D.J.: Effects of chronic intracerebroventricular infusion of angiotensin II on arterial pressure and fluid homeostasis. *Hypertension* 4:312-319, 1982.
73. FLEMING W.W.; WESTFALL D.P.; LANDE J.S.; JELLET L.B.: Long-normal distribution of equieffective doses of norepinephrine and acetylcholine in several tissues. *J.Pharmacol.Exp.* 181: 338-345, 1972.
74. FOG M.: Cerebral Circulation. The reaction of the pial arteries to a fall in blood pressure. *Arch.Neurol.Psych.* 37: 351-364, 1937.
75. FOG M.: Cerebral Circulation II: Reaction of pial arteries to increase in blood pressure. *Arch.Neurol.Psych.* 41:260-268, 1939.
76. FOLKOW B.: Intravascular pressure as a factor regulating the tone of the small vessels. *Acta Physiol.Scand.* 17:289-310, 1949.
77. FORBES H.S.: Cerebral Circulation I: Observation and measurement of pial vessels. *Arch.Neurol.Psychiat.* Chicago, 19:751-761, 1928.
78. FORBES H.S.; WOLFF H.C.: Cerebral Circulation III: Vasomotor control of cerebral vessels. *Arch.Neurol.Psychiatry* 19: 1057-1086, 1928.
79. FOZARD J.R.: 5-Hydroxytryptamine in the pathophysiology of migraine. En:"Vascular Neuroeffector Mechanisms" Bevan J.A. et al.(Eds Elsevier Science Publishers B.V., 321-328, 1985.
80. FRASER R.A.; STEIN B.M.; BARRETT R.E.: Noradrenergic mediation of experimental cerebrovascular spasm. *Stroke* 1:356-362, 1970.
81. FURCHGOTT R.F.: The pharmacological differentiation of adrenergic receptors. *Ann.N.Y.Acad.Sci.* 139: 553-570, 1967.
82. GARCIA H.; KAPLAN S.L.; PEIGIN R.D.: Cerebrospinal fluid concentration of arginine-vasopressin in children with bacterial meningitis. *J.Pediatr.* 98: 67-70, 1981.

83. GEHLERT D.R.; SPETH R.C.; HEALY D.P.; WAMSLEY J.K.: Autoradiographic localization of angiotensin II receptors in the rat brainstem. *Life Sci.* 34: 1565-1571, 1984.
84. GEHLERT D.R.; SPETH R.C.; WAMSLEY J.K.: Autoradiographic localization of angiotensin II receptors in the rat brain and kidney. *Eur.J.Pharmacol.* 98: 145-146, 1984.
85. GELMERS H.J.: Nimodipine. A new calcium antagonist in the prophylactic treatment of migraine. *Headache* 23:106-109, 1983.
86. GOMEZ B.; ALBORCH E.; DIEGUEZ G.; LLUCH S.: Presence of alpha and beta adrenergic tone in the walls of cerebral blood vessels. En: "The cerebral vessels wall". J. Cervós-navarro (Ed.) Raven Press. New York: 139-142, 1976.
87. GOODFRIEND T.L.: Angiotensin receptors and specific functions of angiotensin I, II and III. En: "Hypertension Physiopathology and treatment". Genest J.; Kuchel O.; Hamet P.; Cantin M. (Eds.) Mc Graw Hill, New York: 271-279, 1983.
88. GRIFFITH S.G.; BURNSOCK G.: Immunohistochemical demonstration of serotonin in nerves supplying human cerebral and mesenteric blood vessels. *The Lancet* 12: 561-562, 1983.
89. GRIFFITH S.G.; LINCOLN J.; BURNSTOCK G.: Serotonin as a neurotransmitter in cerebral arteries. *Brain Res.* 247:388-392, 1982.
90. GUNTHER S.; GIMBRONE M.A.; ALEXANDER R.W.: Identification and characterization of the high affinity vascular angiotensin II receptors in rat mesenteric artery. *Circ.Res.* 47:278-286, 1980.
91. HAMMER J.; LADEFOGED J.; ØLGAARD K.: Relationship between plasma osmolarity and plasma vasopressin in human subjects. *Am.J.Physiol.* 238: E313-E317, 1979.
92. HAMMER M.; SØRENSEN P.S.; GJERRIS F.; LARSEN K.: Vasopressin in the cerebrospinal fluid of patients with normal pressure hydrocephalus and benign intracranial hypertension. *Acta Endocrinol.* 100: 211-215, 1982.

93. HANKO J.; HARDEBO J.E.;OWMAN C.: Effects of various neuro-peptides on cerebral blood vessels. J.Cerebral Blood Flow and Metabolism 1(Suppl.1):346-347, 1977.
94. HANKO J.; HARDEBO J.E.; OWMAN C.: Vasomotor effects of some neuropeptides on isolated pial arteries of the cat. En:"Cerebral Microcirculation and Metabolism" Cervós-Navarro J. and Fritschka E. (Eds.) Raven Press New York.157-161,1981.
95. HARIK S.I.: Neurotransmitter receptors in cerebral micro-vessels. En:"Neurotransmitter and the Cerebral Circulation". Mc Kenzie E.T.et al.(Eds.)L.E.R.S.4:2 Raven Press N.Y.:1-9,1984.
96. HARPER A.M.;McKENZIE E.T.: Effects of 5-hydroxytryptamine on pial arteriolar calibre in anaesthetized cat.J.Physiol. 271: 735-746, 1977.
97. HARTMAN B.K.; ZIDE D.; UDENFRIEND S.: The use of dopamine- β -hydroxylase as a marker for the central noradrenergic nervous system in rat brain. Proc.Nat.Acad.Sci.(Wash)69:2722-2726,1972.
98. HAYASHI S.; MIYAZAKI M; TODA N.: Responsiveness to vaso-active agents of cerebral and mesenteric arteries isolated from control and reserpine-treated dogs. Br:J.Pharmacol.68:473-478, 1980.
99. HERNANDEZ-PEREZ M.J.; STONE H.L.: Sympathetic innervation of the circle of Willis in the macaque monkey. Brain Res. 80: 507-511, 1974.
100. HEYNDRIX G.R.; BOETTCHER D.H.; VATNER S.F.: Effects of angiotensin, vasopressin and methoxamine on cardiac function and blood flow distribution in conscious dogs. Am.J.Physiol. 231: 1579-1587, 1976.
101. HILL L.: The physiology and pathology of the cerebral circulation. An Experimental Rechearch. J. and A.Churchill, London. 1896.

102. HOFBAUER K.G.; STUDER W.; MAH S.C.; MICHEL J.B.; WOOD J.M.; STALDER R.: The significance of vasopressin as a pressor agent. *J.Cardiovasc.Pharmacol.*, 6 (Suppl. 2): 429-438, 1984.
103. HOGESTÄLT E.D.; ANDERSON K.E.: Mechanisms behind the biphasic contractile response to potassium depolarization in isolated rat cerebral arteries. *J.Pharmacol.Exp.Ther.* 228: 187-195, 1984.
104. HÖKFELT T.; JOHANSSON O.; LJUNGDAHL A.; LUNDBERG J.M.; SCHULTZBERG M.: Peptidergic neurones. *Nature (Lond.)* 284: 515-521, 1980.
105. HOUSTON D.S.; VANHOUTTE P.M.: Serotonin and the vascular system. Role in health and disease, and implications for therapy. *Drugs* 31:149-163, 1986.
106. IGLESIAS J.R.; MARIN J.; SALAICES M.; PASCUAL O.: Existence and localization of adrenergic neurons in meninges from human adult. *J.Neurosurg.* 55: 438-444, 1981.
107. ITAKURA T.; YOKOTE H.; KIMURA H.; KAMEI I.; NAKAKITA K.; NAKA Y.; NAKAI K.; IMAI H.; KOMAI N.: 5-hydroxytryptamine innervation of vessels in the rat cerebral cortex. Immunohistochemical findings and hydrogen clearance study of CBF. *J.Neurosurg.* 62: 42-47, 1985.
108. IVERSEN L.L.: Neurotransmitters. *The Lancet* (Ed. Esp.) 2:187-192, 1983.
109. IWAYAMA T.: Ultrastructural changes in the nerve innervating the cerebral artery after sympathectomy. *Z.Zellforsch.* 109: 465-480, 1970.
110. JAMES I.M.; MILLAR R.A.; PURVES M.J.: Observations of the extrinsic neural control of cerebral blood flow in the baboon. *Circulation Res.* 25:77-93, 1969.
111. JAUERNIG R.A.; MOULDS R.F.W.: A human arterial preparation for studying the effects of vasoactive agents. *Circulation Res.* 42:363-368, 1978.

112. JENKINS J.S.; MATHER H.M.; ANG V.: Vasopressin in human cerebrospinal fluid. *J.Clin.Endocrinol.Metab.*50:364-367,1980.
113. JOHNSTON C.F.; NEWMAN M.; WOODS R.: Role of vasopressin in cardiovascular homeostasis and hypertension. *Clin.Sci.*61: 129-139, 1981.
114. JOYNT R.J.; FEIBEL J.H.; SLADEK C.M.: Antidiuretic hormone levels in stroke patients. *Ann.Neurol.*9: 182-184, 1981.
115. KASSEL N.F.; SASAKI T.; COLOHAN A.R.T.; NAZAR G.: Cerebral vasospasm following aneurismal subarachnoid haemorrhage. *Stroke* 16: 562-572, 1985.
116. KASSEL N.F.; TORNER J.C.: The International Cooperative Study on Timing of Aneurysm Surgery. An Update. *Stroke* 15: 566-570, 1984.
117. KETY S.S.; KATKENSCHIEL J.H.; JEFFERS W.A.; LEOPOLD J.H.; SHENKIN A.A.: Blood flow, vascular resistance and oxygen consumption of the brain in essential hypertension. *J.Clin.Invest.* 27:511-514, 1948.
118. KHAIRALLAH P.A.; PAGE J.H.; BUMPUS F.M.; TURKER R.K.: Angiotensin tachyphylaxis and its reversal. *Circ.Res.*19:247-254,1966.
119. KODAMA N; HARI S.; KAMIYAMA K.; MIZON K.; SUZUKI I.: Cervical sympathectomy for cerebral vasospasm after aneurysm rupture. In: "Cerebral arterial spasm: Proceedings of the second International Workshop". Wilkins R.H. (Ed.). Williams and Wilkins. Amsterdam.Baltimore. London:680-684, 1980.
120. KOELLIKER A.: Hallen und Gefasse des zentralen Nervensystems. *Handb d Gewebelehre d Menschen*, 2 auf. 1893.
121. KONTOS H.A.: Regulation of the cerebral circulation. *Ann.Rev.Physiol.* 43: 497-407, 1981.

122. KONTOS H.A.; WEI E.P.; NAVARI R.M.; LEVASSEUR J.E.; ROSEMBLUM E.T.; PATTERSON J.L.: Responses of cerebral arteries and arterioles to acute hypotension and hypertension. *Am.J. Physiol.* 234: 371-383, 1978.
123. KOŹNIEWSKA R.; OSTENDA M.; SKOLASIŃSKA K.: The effect of vasopressin on cerebral blood flow in normotensive and spontaneously hypertensive rats. En: "Cerebral Microcirculation and Metabolism". Cervós-Navarro J.; Fristscha (Eds.). Raven Press. New York: 163-170, 1981.
124. KROG J.: Autonomic nervous control of the cerebral blood flow in man. *J.Oslo City Hosp.* 14:23-25, 1964.
125. KURTZKE J.F.: Epidemiology of cerebrovascular disease. En: "Cerebrovascular survey report for joint council subcommittee on cerebrovascular disease". National Institute of Neurological and Communicative Disorders and Stroke and National Heart and Lung Institute. Whiting Press. Rochester. M.N.; 135-176, 1980.
126. KUSCHINSKY W.; WAHL M.: Local chemical and neurogenic regulation of cerebral vascular resistance. *Physiol.Rev.* 58: 656-689, 1978.
127. LAMAR J.C.; EDVINSSON L.: 5-hydroxytryptamine receptors. Contractile activity and mode of inhibition by methysergide in mammalian intracranial and extracranial vessels. *Arch.Int. Pharmacodyn.Ther.* 243: 245-254, 1980.
128. LANCE J.W.: Mechanism and management of Headache. 4th Ed. Butterworth scientific. London:121-151, 1982.
129. LANCE J.W.; LAMBERT G.A.; GOADSBY P.J.; DUCKWORTH J.W.: Brainstem influences on the cephalic circulation: experimental data from cat, and monkey, of relevance to the mechanism of migraine. *Headache* 23: 256-258, 1983.

130. LANG R.E.; UNGER T.; RASCHER W.; GANTEN D.: Brain angiotensin En: "Handbook of Psychopharmacology" Vol.16. Neuropeptides. Iversen S.D.; Snyder S.H. (Eds.) Plenum Press New York: 307-361, 1983.
131. LANGER S.Z.; TRENDELENBURG H.: The effect of a saturable uptake mechanism on the slopes of dose-response curves for sympathomimetic amines and of the shifts of dose-response curves produced by a competitive antagonist. J.Pharmacol.Exp.Ther. 167: 117-142, 1969.
132. LARSSON L.; EDVINSSON L.; FAHRENKRUG J.; HÅKANSON R.; OWMAN C.; SCHUFFULITZKY de MUCKANDELL O.B.; SUNDLER F.: Immunohistochemical localization of a vasodilatory polypeptide (VIP) in cerebrovascular nerves. Brain Res. 113: 400-404, 1976.
133. LARSSON B; OLSSON K.; FYHRQUIST F.: Vasopressin release induced by haemorrhage in the goat. Acta Physiol.Scand.104: 309-317, 1978.
134. LASSEN N.A.: Cerebral blood flow and oxygen consumption in man. Physiol.Rev. 39: 183-238, 1959.
135. LASSOFF S.; ALTURA B.M.: Do pial terminal arterioles respond to local perivascular application of the neurohypophyseal peptide hormones vasopressin and oxytocin? Brain Res. 196: 266-269, 1980.
136. LEE T.J.F.; SU C.; BEVAN J.A.: Nonsympathetic dilator innervation of cat cerebral arteries. Experientia. 31/12: 1424-1426, 1975.
137. LEE T.J.F.; SU C.; BEVAN J.A.: Neurogenic sympathetic vasoconstriction of the rabbit basilar artery. Circ. Res. 39: 120-126, 1976.
138. LE MORVAN P.; PALIAC D.: Characterization of the angiotensin receptor in guinea-pig aorta. J.Pharmacol.Exp.Ther. 195: 167-175, 1975.

139. LIARD J.F.: Vasopressin in cardiovascular control and in hypertension. En: "Hypertensive mechanism. The spontaneously hypertensive rat as a model to study human hypertension". Rascher W. Clough D. Ganten D. (Eds.). Stuttgart. N.Y., F.K. Schattner : 561-573, 1982.
140. LIN S.I.; GOODFRIEND T.L.: Angiotensin receptors. Am.J: Physiol. 218: 1319-1328, 1970.
141. LOWE R.F.; GILBOE D.D.: Demonstration of alpha and beta adrenergic receptors in canine cerebral vasculature. Stroke 2: 193-200, 1971.
142. LUERSSEN T.G.; ROBERTSON G.L.: Cerebrospinal fluid vasopressin and vasotocin in health and disease. En: "Neurobiology of Cerebrospinal Fluid". Wood J.H. (Ed.). Vol.1. N.Y. Plenum:613-623, 1980.
143. LUERSSEN T.G.; SHELTON R.L.; ROBERTSON G.L.: Evidence of separate origin of cerebrospinal fluid vasopressin. Clin.Res. 25: 14A, 1977.
144. LLUCH S.; CONDE M.V.; DIEGUEZ G.; LOPEZ DE PABLO A.L.; GONZALEZ M.C.; ESTRADA C.; GOMEZ B.: Evidence for the direct effect of vasopressin on human and goat cerebral arteries. J. Pharmacol. Exp. Ther. 228: 749-755, 1984.
145. LLUCH S.; DIEGUEZ G.; ALBORCH E.; RUIZ M.C.; GOMEZ B.: Direct and indirect effects of 5-hydroxytryptamine on cerebral blood vessels. En: "The cerebral vessel wall". J.Cervós-Navarro et al. (Ed.). Raven Press. N.Y.:135-138, 1976.
146. LLUCH S.; GOMEZ B.; ALBORCH E.; URQUILLA P.R.: Adrenergic mechanisms in cerebral circulation of the goat. Am. J. Physiol. 228: 985-989, 1975.
147. LLUCH S.; REIMANN C.; GLICK G.: Evidence for the direct effect of adrenergic drugs on the cerebral vascular bed of the unanesthetized goat. Stroke 4: 50-56, 1973.

148. MACKENZIE E.T.; STEWART M.; YOUNG A.R.; HARPER A.M.:
Cerebrovascular actions of serotonin. Arch.Neurol.20:77-83,1978.
149. MACKENZIE E.T.; STRANDGAARD S.; GRAHAM D.I.; JONES J.V.;
HARPER A.M.; FARRAR J.K.: Effects of acutely induced hyper-
tension in cats on pial arteriolar caliber, local cerebral
blood flow and the blood brain barrier. Circ.Res.39:33-41,1976.
150. MANNING M.; LOWBRIDGE J.; STIER C.T.; HALDAR J.; SAWYER
W.H.: (1-Deaminopenicillamine,4-valine)-8-D-arginine-vasopre-
ssin, a highly potent inhibitor of the vasopressor response
to arginine-vasopressin. J.Med.Chem. 20:1228-1230, 1977.
151. MARCO E.J.; BALFAGON G.; CONDE M.V.: Indirect adrenergic
effect of histamine in human cerebral arteries: influence of
post-mortem period. J.Pharm.Pharmacol. 36: 253-255, 1984.
152. MARIN J.; SALAICES M.; GOMEZ B.; LLUCH S.: Direct and
indirect effects of serotonin in goat pial arteries. En:
"Circulation Cerebrale". A.Bes, G.Geraud (Eds.) Toulouse:
15-17, 1979.
153. MARIN J.; SALAICES M.; GOMEZ B.; LLUCH S.: Noradrener-
gic component in the vasoconstriction induced by 5-hydroxy-
tryptamine in goat cerebral arteries. J.Pharm.Pharmacol.33:
715-719, 1981.
154. MARIN J.; SALAICES M.; MARCO E.J.; GOMEZ B.;LLUCH S.: Ana-
lysis of the contractile effect of 5-hydroxytryptamine on
isolated posterior communicating artery of the cat. J.Pharm.
Pharmacol. 31: 456-459, 1979.
155. MARIN J.; SANCHEZ C.F.: Release of noradrenaline from
cat cerebral arteries by different drugs and potassium.
Biochem.Pharmacol. 29: 840-842, 1980.
156. MARTIN ALVARADO M.A.: Interacción angiotensina II -
saralasina en arterias cerebrales y femorales aisladas de
gato. Tesis de Licenciatura. Facultad de Medicina. Universidad
Autónoma de Madrid. 1983.

157. MATHER H.M.; ANG V.; JENKINS J.S.: Vasopressin in plasma and C.S.F. of patients with subarachnoid haemorrhage. *J. Neurol.Neurosurg.Psychiatry* 44: 216-219, 1981.
158. MENDELSON F.A.O.: Localization and properties of angiotensin receptors. *J. Hypertension* 3: 307-316, 1985.
159. MILLAR R.A.: Neurogenic control of the cerebral circulation. *Int.Anest.Clin.* 7: 539-556, 1969.
160. MÖHRING J.: Neurohypophyseal vasopressor principle: vasopressor hormone as well as antidiuretic hormone? *Klin. Wochenschr.* 56 (suppl 1): 71-79, 1978.
161. MÖHRING J.; GLÄNZER K.; MACIEL J.A.; DÜSING R.; KRAMER H.J.; ARBOGAST R.; ROCH-WESER J.: Greatly enhanced pressor response to antidiuretic hormone in patients with impaired cardiovascular reflexes due to idiopathic orthostatic hypotension. *J.Cardiovasc.Pharmacol.* 2: 267-276, 1980.
162. MONTANT J.P.; LIARD J.F.; SCHOUN J.; MÖHRING J.: Hemodynamic effects of exogenous and endogenous vasopressin at low plasma concentrations in conscious dogs. *Circ.Res.* 47: 346-355, 1980.
163. MOSKOWITZ M.A.; LIEBMAN J.E.; REINHARD J.F.; SCHOLSBERG A.: Raphe origin of serotonin containing neurons within choroid plexus of the rat. *Brain Res.* 169: 590-594, 1979.
164. MULVANY M.J.; HALPERN W.: Contractile properties of small arterial resistance vessels in spontaneously hypertensive and normotensive rats. *Circ.Res.* 1: 19-26, 1977.
165. NAGAI H.; NODA S.; MABE H.: Experimental cerebral vasospasm. Part 2: Effects of vasoactive drugs and sympathectomy on early and late spasm. *J.Neurosurg.* 42: 420-428, 1975.
166. NAKANO J.: Cardiovascular actions of vasopressin. *Jpn. Circ. J.* 37: 263-391, 1973.

167. NAPOLEONE P.; SANCESARIO G.; AMENTA F.: 5-hydroxytryptophan uptake in indoleaminergic nerve fibers within rat cerebrovascular tree. *Neurosci.Lett.* 28: 57-60, 1982.
168. NELSON E.; RENNELS M.: Innervation of intracranial arteries. *Brain* 93: 475-490, 1970.
169. NIELSEN K.C.; OWMAN C.: Adrenergic innervation of pial arteries related to the circle of Willis in the cat. *Brain Res.* 6: 773-776, 1967.
170. NIELSEN K.C.; OWMAN C.: Contractile response and amine receptor mechanisms in isolated middle cerebral artery of the cat. *Brain Res.* 27: 33-42, 1971.
171. OLESEN J.: The effect of intracarotid epinephrine, norepinephrine and angiotensin on the regional cerebral blood flow in man. *Neurology* 22: 978-987, 1972.
172. OWMAN C.; ANDERSSON J.; HANKO J.; HARDEBO H.E.: Neurotransmitter amines and peptides in the cerebrovascular bed. In: "Neurotransmitter and the Cerebral Circulation" McKenzie E.T. (Ed.). LERS. Raven Press N.Y., 2: 11-38, 1984.
173. OWMAN C.; EDVINSSON L.; NIELSEN K.C.: Autonomic neuroreceptor mechanisms in brain vessels. *Blood Vessels* 11: 2-31, 1974.
174. PADFIELD P.L.; BROWN J.J.; LEVER A.F.; MORTON J.J.; ROBERTSON J.I.S.: Changes of vasopressin in hypertension: Cause of effect? *Lancet* I: 1255-1257, 1976.
175. PALS D.T.; MASUCCI F.D.; DENNING G.S.; SIPOS F.; FESSLER D.C.: Role of the pressor action of angiotensin II in experimental hypertension. *Circ.Res.* 29: 673-681, 1971.
176. PANG C.Cy; Mc NEIL J.R.; WILCON W.C.; MANNING M.; SAWYER W.H.: (1-Deaminopenicillamine, 4-valine, -8-D-arginine)-vasopressin antagonizes the mesenteric vasoconstrictor response to arginine vasopressin in cats. *Proc.Soc.Exp.Biol.Med.* 161: 41-43, 1979.

177. PEARCE J.M.S.: Migraine: A cerebral disorder. *Lancet* 2: 86-89, 1984.
178. PEERLESS S.J.; KENDALL M.J.: Experimental cerebral vasospasm. En: "Proceeding of the ninth Princenton Conferene on Cerebral Vascular Disease" Whisnant J.P.; Sandok B.A. (Eds.). Grune and Stration. N.Y.: 49-58, 1974.
179. PENFIELD W.: Intracerebral vascular nerves. *Arch.Neurol. Psychiatry* 27: 30-44, 1932.
180. PENIT J.; FAURE M.; JARD S.: Vasopressin and angiotensin II receptors in rat aortic smooth muscle cells in culture. *Am.J.Physiol.* 244: E72-E82, 1983.
181. PEROUTKA S.I.: The pharmacology of calcium channel antagonists: A novel class of anti-migraine agents? *Headache* 23: 278-283, 1983.
182. PEROUTKA S.J.; ALLEN G.S.: The calcium antagonist properties of cyproheptadine: implications for antimigraine action. *Neurology (NY)* 34: 304-309, 1984.
183. PEROUTKA S.J.; BANGART S.B.; ALLEN G.S.: Calcium channel antagonism by pizotifen. *Jr.Neurol.Neurosurg.Psych.* 48:381-383, 1985.
184. PEROUTKA S.J.; LEOVITZ R.M.; SYNDER S.H.: Two distinct central serotonin receptors with different physiological functions. *Science* 212: 828-829, 1981.
185. PEROUTKA S.J.; NOGUCHI M.; TORNER D.J.; ALLEN G.S.: Serotonin-induced contraction of canine basilar artery: mediation by 5-HT₁ receptors. *Brain Res.* 259: 327-330, 1983.
186. PETERSON J.W.; ADAMS J.F.; ZERVAS N.T.: Calmodulin antagonism can prevent and relieve delayed cerebral vasospasm in tow haemorrhage canine model.(abstract). *Circulation* 68 (suppl. 3): 171, 1983.

187. PETTINGER W.A.; MITCHELL H.C.: Clinical pharmacology of angiotensin antagonists. *Federation Proc.* 35: 2521-2525, 1976.
188. PLUCHINO S.: Direct and indirect effects of 5-hydroxytryptamine and tyramine on cat smooth muscle. *Naunyn. Schmiedeberg's Arch. Pharmacol.* 272: 189-224, 1972.
189. RAP Z.M.; CHWALBISNSKA-MONETA J.: Vasopressin concentration in blood during acute short-term intracranial hypertension in cats. *Adv. Neurol.* 20: 381-388, 1978.
190. RAYNOR R.B.; McMURTY J.G.: Prevention of serotonin-produced cerebral vasospasm. *Neurology* 13: 94-96, 1963.
191. REINHARD J.F.; LIEBMANN J.E.; MOSKOWITZ M.A.; ELSPAS S.R.: Serotonin innervation of rat and bovine parenchima brain blood vessels; biochemical and pharmacological studies. *Neurosci. Abstr.* 4:451, 1978.
192. REINHARD J.F.; LIEBMANN J.E.; SCHLOSBERG A.J.; MOSKOWITZ M.A.: Serotonin neurones project to small blood vessels in the brain. *Science* 206: 85-87, 1979.
193. RICHARDSON J.B.; BEAULNES A.: The cellular site of action of angiotensin. *J. Cell Biology* 51: 419-432, 1971.
194. ROCHA E.; SILVA M.; ROSENBERG M.: The release of vasopressin in response to haemorrhage and its role in the mechanism of blood pressure regulation. *J. Physiol. (Lond.)* 202: 535-557, 1969.
195. RODRIGUEZ E.M.: The cerebrospinal fluid as a pathway in neuroendocrine integration. *J. Endocrinol.* 71: 407-443, 1976.
196. RONNBERG A.L.; EDVINSSON L.; LARSSON L.I.; NIELSEN K.C.; OWMAN C.: Regional variation in the presence of mast cells in the mammalian brain. *Agent Action*, 3: 191-194, 1973.
197. ROSE G.A.; MOULDS R.F.W.: Pharmacological comparison of isolated human cerebral and digital arteries. *Stroke* 10: 736-741, 1979.

198. ROSEMBLUM W.I.: Cerebral microcirculation: a review emphasizing the interrelationship of local blood flow and neuronal function. *Angiology* 16:485-507, 1965.
199. ROSEMBLUM W.I.; A possible role for mast cells in controlling the diameter of arterioles on the surface of the brain. *Brain Res.* 49: 75-82, 1973.
200. ROSEMBLUM W.I.; Contractile effects of norepinephrine on pial arterioles of the mouse. *Fed.Proc.*33:343, 1974.
201. ROSSOR M.N.; IVERSEN L.L.; HAWTHORN J.: Extrahypothalamic vasopressin in human brain. *Brain Res.*214:349-355, 1981.
202. ROY C.S.; SHERRINGTON C.S.: On the regulation of the blood supply of the brain. *J.Physiol.* 11: 86-108, 1890.
203. RUSCH N.J.; CHYATTE D.; SUNDT T.M.; VANHOUTTE P.: 5-hydroxytryptamine: source of activator calcium in human basilar arteries. *Stroke* 16: 718-720, 1985.
204. SALAICES M.; ARIAS M.; MARIN J.: Análisis de las respuestas vasoconstrictoras inducidas por tiramina y norepinephrina en las arterias comunicante posterior, femoral y mesentérica de gato. *Actas del XVIII Congreso Nacional de la S.E.C.F. Valencia*, 1979.
205. SALAZAR F.J.; GARCIA-ESTAN J.; CARBONELL L.F.; MUÑOZ J.A.; CANTERAS M.; QUESADA T.: Participation of the renin-angiotensin system in experimental renovascular hypertension. *Rev.Esp. de Fisiología* 39: 161-168, 1983.
206. SASAKI T.; KASSEL N.F.; ZUCCARELLO M.: Dependence of cerebral arterial contractions on intracellularly stored Ca^{++} . *Stroke* 17: 95-97, 1986.
207. SAWYER W.H.; GRZONKA Z.; MANNING M.: Neurohypophyseal peptides design of tissue specific agonists and antagonists. *Mol.Cell.Endocrinol.*22: 117-134, 1981.

208. SCHILD H.Q.: pA. A new scale for the measurement of drug antagonist. *Brit.J.Pharmacol.* 2: 189-206, 1947.
209. SCHMID P.G.; ABBOUD F.M.; WENDLING M.G.; RAMBERG E.S.; MARK A.L.; HEISTAD D.D.; ECKSTEIN J.W.: Regional vascular effects of vasopressin: Plasma levels and circulatory responses. *Am.J.Physiol.* 227: 998-1004, 1974.
210. SERCOMBE R.; AUBINEAU P.; EDVINSSON L.; MAMO H.; OWMAN C.; PINARD E.; SEYLAZ J.: Neurogenic influence on local blood flow. *Neurology* 25: 954-963, 1975.
211. SERCOMBE R.; AUBINEAU P.; LUSAMYUKU N.A.: Evidence of angiotensin sensitivity in rabbit cerebral arteries in vitro. En: "Circulation Cerebrale". Bes A.; Geraud G. (Eds.). Toulouse: 59-61, 1979.
212. SHARE L.; CROFTON J.T.: Contribution of vasopressin to hypertension. *Hypertension* 4 (suppl. III): 85-92, 1982.
213. SHIBATA S.; CHENG J.B.; MURAKAMI W.: Reactivity of isolated human cerebral arteries to biogenic amines. *Blood Vessels* 14: 356-365, 1977.
214. SICUTERI F.; ANSELMINI B.; DEL BIACO : 5-Hydroxytryptamine supersensitivity as a new theory of headache and central pain: A clinical pharmacological approach with P-Chlorophenyl-alanine. *Psychopharmacology*. 29: 347-356, 1973.
215. SKÄRBY T.; ANDERSSON K.E.; EDVINSSON L.: Characterization of the post-synaptic alpha adrenoceptor in isolated feline cerebral arteries. *Acta Physiol.Scand.* 112: 105-107, 1981.
216. SNEDECOR G.W.: Statistical methods. 7th ed. The IOWA State University Press. Ames, Iowa. U.S.A., 1980.
217. SØRENSEN P.S.; GJERRIS F.; HAMMER M.: Cerebrospinal fluid vasopressin and increased intracranial pressure. *Ann.Neurol.* 15: 435-440, 1984.

218. SØRENSEN P.S.; HAMMER M.; GJERRIS F.: Cerebrospinal fluid vasopressin in benign intracranial hypertension. *Neurology (N.Y.)* 32: 1255-1259, 1982.
219. STRANDGAARD S.; MCKENZIE E.T.; JONES J.V.; HARPER A.M.: Studies on the cerebral circulation of the baboon in acutely induced hypertension. *Stroke* 7: 287-290, 1976.
220. SUNDT T.M., ONOFIZIO B.M.; MEREDITH J.: Treatment of cerebral vasospasm from SAH with isoproterenol and lidocaine hydrochloride, *J. Neurosurg.* 38: 557-560, 1973.
221. SVENGAARD N.A.; BRISMAR J.; DELGADO T.J.; ROSENGREN E.; STENEVI V.: Subarachnoid haemorrhage in the rat: effect on the development of cerebral vasospasm of lesions in the central serotonergic and dopaminergic systems. *Stroke* 17: 86-90, 1986.
222. SVENGAARD N.A.; BRISMAR J.; DELGADO T.J.; ROSENGREN E.: Subarachnoid haemorrhage in the rat: effect on the development of vasospasm of selective lesions of the catecholamine systems in the lower brain stem. *Stroke* 16: 6-12, 1985.
223. SYMON L.; HELD K.; DORSCH N.W.C.: A study of regional autorregulation in the cerebral circulation to increased perfusion pressure in normocapnia and hyperemia. *Stroke* 4: 139-147, 1973.
224. SZCZEPANSKI-SADOWSKA E.: Activity of the hypothalamo-hypophyseal antidiuretic system in conscious dogs. *Pfluegers Arch. Eur. J. Physiol.* 335: 139-146, 1972.
225. TALLARIDA R.J.; LOWAN A.; ADLER M.W.: pA_2 and receptor differentiation: A statistical analysis of competitive antagonism. *Life Sciences* 25: 637-654, 1979.
226. THOMSON J.A.; WEI E.P.; KONTOS H.A.: Inhibition by ketanserin of serotonin induced cerebral arteriolar constriction. *Stroke* 15: 1021-1024, 1984.

227. TODA N.: Alpha adrenergic receptor subtypes in human, monkey and dog cerebral arteries. J.Pharmacol.Exp. Ther. 226: 861-868, 1983.
228. TODA N.; FUJITA Y.: Responsiveness of isolated cerebral and peripheral arteries to serotonin, norepinephrine and transmural electrical stimulation. Circ.Res 33: 98-104, 1973.
229. TODA N.; HAYASHI S.; HATTORI K.: Analysis of the effect of tyramine and norepinephrine in isolated canine cerebral and mesenteric arteries. J.Pharmacol.Exp.Ther.205:382-391, 1978.
230. TODA N.; MIYAZAKI M.: Regional and species differences in the response of isolated arteries to angiotensin II. Japan.J. Pharmacol. 28: 495-497, 1978.
231. UCHIDA E.; BOHR D.F.; HOOBLER : A method for studying isolated resistance vessels from rabbit mesentery and brain and their responses to drugs. Circ. Res. 21: 525-536, 1967.
232. UDDMAN R.; EDVINSSON L.; HÅKANSON R.; OWMAN C.; SUNDLER F.: Immunohistochemical demonstration of APP (avian pancreatic polypeptide) immunoreactive nerve fibres around cerebral blood vessels. Brain Res.Bull. 9: 715-718, 1982
233. UDDMAN R.; EDVINSSON L.; OWMAN C.; SUNDLER F.: Perivascular substance P: Occurrence and distribution in mammalian pial vessels. J. Cerebral Blood Flow Metab. 1: 227-232, 1981.
234. UDDMAN R.; EDVINSSON L.; OWMAN C.; SUNDLER F.: Nerve fibres containing gastrin-releasing peptide around pial vessels. J. Cerebral Blood Flow Metab. 3: 386-390, 1983.
235. URQUILLA P.R.; MARCO E.J.; BALFAGON G.; LLUCH S.: Adrenergic mechanisms in cerebral blood vessels: Effect of tyramine on the isolated middle cerebral artery of the goat. Stroke 5: 447-452, 1974.

236. URQUILLA P.R.; MARCO E.J.; LLUCH S.: Pharmacological receptors of the cerebral arteries of the goat. *Blood Vessels* 12: 53-67, 1975.
237. VANHOUTTE P.M.: 5-Hydroxytryptamine and vascular disease. *Federation Proc.* 42: 233-237, 1983.
238. VANHOUTTE P.M.; VERBEUREN T.J.; WEBB R.C.: Local modulation of adrenergic neuroeffector interaction in the blood vessel wall. *Physiol. Rev.* 61: 151-247, 1981.
239. VAN NUETEN J.M.; VANHOUTTE P.M.: Effect of the Ca^{++} antagonist lidoflazine on normoxic and anoxic contractions of canine coronary arterial smooth muscle. *Eur.J.Pharmacol.* 64:176-173, 1980.
240. VOLDBY B; ENGBAERK F.; ENEVOLDSEN M.: C.S.F. serotonin concentrations and cerebral arterial spasm in patient with ruptured intracranial aneurysm. *Stroke* 13: 184-189, 1982.
241. VORHERR H.; BRADBURY M.W.B.; HOGHOUGH M.; KLEEMAN C.R.: Antidiuretic hormone in cerebrospinal fluid during endogenous and exogenous changes in its blood level. *Endocrinology* 83: 246-250, 1968.
242. WEI E.P.; KONTOS H.A.; PATTERSON J.L.: Vasoconstrictor effect of angiotensin on pial arteries. *Stroke* 9: 487-489, 1978.
243. WEINDL A.; SOFRONIEW M.V.: Immunohistochemical localization of hypophalamic peptide hormones in the neural target areas. En: "Brain and pituitary peptides basel" Wuttke A.; Weindl A.; Voight K.H.; Dries K.R. (Eds.) Karger. Basel, 97-109, 1980.
244. WEIR B.: Aneurysms affecting the nervous systems. Williams and Wilkins. Baltimore, 1987.
245. WELCH K.M.A.; BARKLEY G.L.: Biochemistry and pharmacology of cerebral ischaemia. En: "Stroke". Barnett et al. (Eds.) Churchill Livingstone. N.Y.: 75-90, 1986.

246. WELCH K.M.A.; MEYER J.S.; TERAURA T.; HASHI K.; SHINMARU S.: Ischaemic anoxia and cerebral serotonin levels. J.Neurol.Sci. 16: 85-92, 1972.
247. WELLUM G.R.; PETERSON J.W.; ZERVAS N.T.: The relevance of "in vitro" smooth muscle experiments to cerebral vasospasm. Stroke 16: 573-581, 1985.
248. WILLIS T.: Cerebri anatome. Martin and Allestry.Londres 1664.
249. YAMAMOTO M.; OHITA T.; TODA N.: Mechanism of relaxant action of nicardipine, a new Ca^{++} - antagonist, on isolated dog cerebral and mesenteric arteries. Stroke 14: 270-275, 1983.
250. YOSHIOKA J.; CLOWER B.R.; SMITH R.r.: The angiopathy of subarachnoid haemorrhage. I: role of vessels wall catecholamines. Stroke 15: 288-294, 1984.
251. ZIMMERMAN B.G.: Blockade of adrenergic potentiating effect of angiotensin by 1-sar-8-ala-angiotensin II. J.Pharmacol.Exp. Ther. 185: 486-492, 1973.
252. ZIMMERMAN B.G.; KRAFT E.: Modulation of vascular neuroeffector mechanisms by angiotensin. En: "Vascular neuroeffector mechanism- endogenous antacoids in blood vessels". Bevan J.A.; Godfrain T.; Maxwell R.A.; Vanhoute P.M. (Eds.) Raven Press. N.Y.: 69-76, 1980.

UNIVERSIDAD
AUTONOMA
DE MADRID
FACULTAD DE MEDICINA
BIBLIOTECA